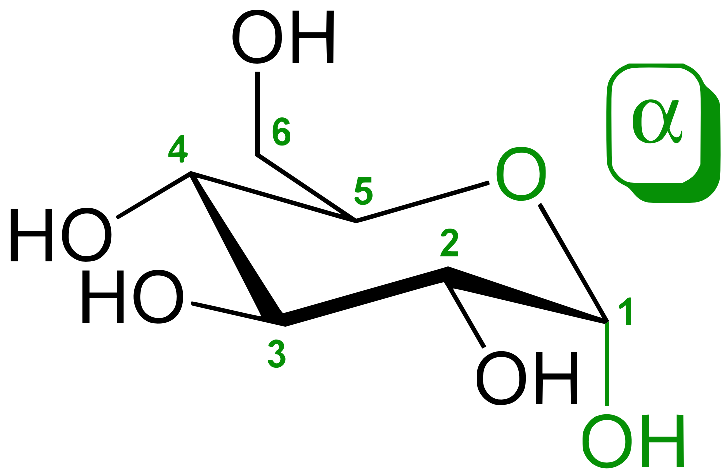
Première année de médecine

Biochimie

Riad Benchoucha



Ce document est distribué gratuitement
21 octobre 2011
LaTeX

Avant propos

Ce modeste ouvrage, conçu comme un recueil de plusieurs livres de références, a pour objectif de présenter les bases de la biochimie structurale aux étudiants de première année de médecine, ainsi qu'à tous ceux qui dans d'autres disciplines, s'intéressent à cette science.

C'est en constatant le manque de livres au niveau de notre université, que j'ai décidé d'apporter ma contribution. Tout au long de sa réalisation, j'ai été guidé par le souci de m'adresser à un large public et de présenter les informations de la manière la plus simple et didactique que possible.

Je serais bien évidement heureux que les lecteurs me fassent part de leurs suggestions et critiques afin que je puisse améliorer et parfaire cet ouvrage. Je reste pour cela joignable par e-mail (riad47@gmail.com).

Riad BENCHOUCHA
Étudiant en médecine

Introduction à l'étude de la biochimie

La biochimie est, selon l'encyclopédie libre Wikipédia, la discipline scientifique qui étudie les réactions chimiques ayant lieu au sein des cellules.

La biologie structurale étudie la composition atomique précise des molécules biologiques (lipides, protéines, glucides, acides nucléiques, etc.), la façon dont ses atomes s'assemblent et la structure tridimensionnelle qui en résulte.

La biologie métabolique étudie les différentes *voies métaboliques* de la cellule, c'est-à-dire toutes les réactions chimiques qui assurent la synthèse des molécules du vivant (anabolisme) ou leur destruction, productrice d'énergie (catabolisme) qui se déroulent de manière ininterrompue dans la cellule, sous le contrôle d'enzymes.

L'enzymologie est la branche de la biochimie qui étudie les enzymes, leurs structures et leurs activités.

Définitions

Hydrophile : un composé est dit hydrophile (littéralement : qui a de l'affinité pour l'eau) quand il est attiré, et tend à être dissous par l'eau et les solvants polaires. Un composé hydrophile est typiquement *polaire*. Cela lui permet de créer des *liaisons hydrogène* avec l'eau ou un solvant polaire **[1]**.

Hydrophobe : un composé est dit hydrophobe quand il est repoussé par l'eau, il est donc insoluble dans l'eau. Il n'a pas la capacité de créer des liaisons hydrogène avec les molécules d'eau. Il est aussi souvent apolaire, ou de faible polarité. À quelques exceptions, les molécules hydrophobes sont lipophiles **[2]**.

Lipophile : se réfère à la capacité d'un composé chimique à se dissoudre dans les graisses, les huiles, les lipides et les solvants non polaires.

Corps gras : un corps gras est une substance composée de molécules ayant des propriétés hydrophobes **[3]**.

Amphiphile : une espèce chimique (que ce soit une molécule ou un ion) est dite amphiphile ou bien amphipathique lorsqu'elle possède à la fois un groupe hydrophile et un groupe hydrophobe. Les savons sont basés sur cette propriété. La partie lipophile fixe les molécules organiques que l'eau seule ne peut retirer, tandis que la partie hydrophile est emportée par l'eau **[4]**.

Hydrocarbure : un hydrocarbure est un composé organique contenant exclusivement des atomes de carbone (C) et d'hydrogène (H) **[5]**.

Composé aromatique : un composé aromatique est un composé chimique qui contient un système cyclique respectant la règle d'aromaticité de Hückel (voir cours de chimie organique). Le benzène est le plus simple hydrocarbure aromatique possible **[6]**.

Composé aliphatique : un composé aliphatique est un composé carboné acyclique ou cyclique, saturé ou insaturé, à l'exclusion des composés aromatiques **[7]**.

Chapitre 1

Dans ce chapitre

Les lipides

Les lipides constituent la *matière grasse* des êtres vivants. Ils ne correspondent pas à une catégorie de molécules parfaitement définie chimiquement et forment donc un groupe très hétérogène de composés. Comme il est difficile de les définir à partir de leur structure, on le fait par leurs propriétés physiques : ces molécules sont caractérisées par leur *hydrophobicité*, elles ne sont pas solubles dans les solvants polaires comme l'eau, mais le sont dans les solvants organiques apolaires tels que l'éther ou le chloroforme.

Les lipides peuvent se présenter à l'état solide, comme dans les cires et les graisses, ou liquide, comme dans les huiles.

1.1 Les acides gras

Les acides gras sont, très souvent une unité de base de la classe des lipides. Le type d'acide gras constitutif de chaque lipide détermine directement ses propriétés et ses fonctions.

Acide gras Selon l'IUPAC, un acide gras est un acide monocarboxylique à longue chaîne aliphatique, dérivé ou contenu sous forme estérifiée dans les graisses, huiles ou cires animales ou végétales.

Les acides gras naturels possèdent généralement une chaîne carbonée de 4 à 28 carbones, non ramifiée et à nombre pair d'atomes de carbone **[8]**.

On parle d'acide gras à *longue chaîne* pour une longueur de 14 à 24 carbones et à *très longue chaîne* s'il y a plus de 24 carbones.

1.1.1 Acides gras saturés

Un acide gras saturé est un acide gras ayant des atomes de carbone totalement saturés en hydrogène (**figure 1.1**). Toutes les liaisons entre les carbones sont *simples* (pas de liaisons doubles) **[9]**.

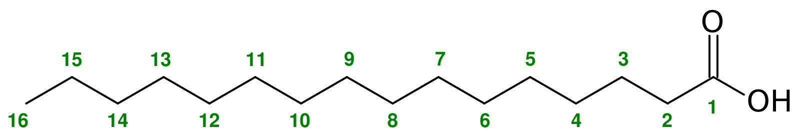


FIGURE 1.1 – L'acide palmitique, 16 atomes de carbone, un exemple d'acide gras saturé.

Les acides gras saturés peuvent être :

Linéaires : avec une chaîne de n (CH_2) liés les uns aux autres (comme dans l'exemple 1.1).

Non linéaires : certains acides gras saturés peuvent être, par exemple ramifiés :
- méthylés comme l'acide isopalmitique (voir figure 1.2) ;
- éthylés ;
- etc.

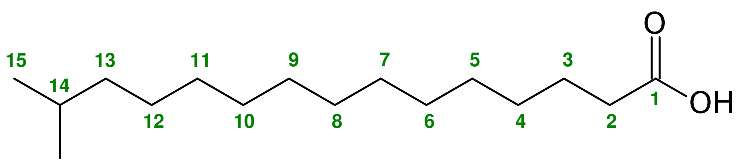


FIGURE 1.2 – Structure de l'acide isoplamitique ou acide 14-methyl-pentadécanoïque.

A. Nomenclature

Chaque acide gras saturé possède en général deux noms **[9]** :

Nom commun : le nom commun rappelle souvent son origine. Par exemple, l'acide caproïque (du latin « capra », chèvre) se trouve dans le lait de chèvre.

Nom systématique : le nom systématique décrit la structure de l'acide gras (nombre de carbones, etc). Il est issu de la nomenclature chimique : **Acide n-(radical du nombre de carbone)anoïque**
- n- indique qu'il s'agit d'une chaîne linéaire non branchée [1] ;
- le radical correspond au nombre d'atomes de carbone de l'acide gras ;
- ane indique qu'il s'agit d'un alkane ;
- oïque qu'il s'agit d'un acide carboxylique.

1. C'est ce qui est utilisé en cours, toutefois les règles de l'IUPAC n'en font pas mention.

À cela, s'ajoute une nomenclature souvent utilisée en physiologie et en biochimie : **acide gras Cx :0**
- Cx indique le nombre d'atomes de carbone ;
- 0 indique qu'il y a zéro double liaison carbone-carbone et par conséquent, que l'acide gras est saturé.

B. Numérotation

Sur une chaîne d'acide gras, la numérotation des carbones commence avec le C du *groupement carboxylique* (carbone le plus oxydé) et finit par le carbone *méthylique terminal*. Le C n° 2 est dénommé α, le C n° 3 est β et le carbone méthylique terminal est le carbone ω **[10]**.

TABLE 1.1 – Exemples d'acides gras saturés.

Carbones	Nom usuel	Nom IUPAC	Symbole	Trouvé dans
4	Acide butyrique	Acide butanoïque	$C_{4:0}$	Beurre rance
6	Acide caproïque	Acide hexanoïque	$C_{6:0}$	Lait de chèvre
8	Acide caprylique	Acide octanoïque	$C_{8:0}$	Lait de chèvre
10	Acide caprique	Acide décanoïque	$C_{10:0}$	Lait de chèvre
12	Acide laurique	Acide dodécanoïque	$C_{12:0}$	Huile de coprah (cocotier)
14	Acide myristique	Acide tétradécanoïque	$C_{14:0}$	Produits laitiers
16	Acide palmitique	Acide hexadécanoïque	$C_{16:0}$	Huile de palme
18	Acide stéarique	Acide octodécanoïque	$C_{18:0}$	La suif
20	Acide arachidique	Acide eicosanoïque	$C_{20:0}$	Huile d'arachide
24	Acide lignocérique	acide tétracosanoïque	$C_{24:0}$	Huile d'arachide

1.1.2 Acides gras insaturés

Un acide gras insaturé est un acide gras qui comporte une ou plusieurs double liaisons carbone-carbone. On parle d'acide gras *mono-insaturé* lorsqu'il n'y a qu'une seule double liaison et d'acide gras *poly-insaturé* lorsqu'il y en a plusieurs **[11]**.

A. Nomenclature chimique

De la même manière que les acides gras saturés, les acides gras insaturés possèdent également un nom commun lié à leur origine et un nom systématique décrivant leur structure.

On utilise aussi la symbolisation $C_{n:x}\Delta d_1, d_2, ..., d_n$ ou $C_{n:x}; d_1, d_2, ..., d_n$ où n est le nombre de carbones de la molécule, x le nombre d'instaurations et d la position des doubles liaisons.

Cas des mono-insaturés Le nom systématique des acides gras mono-insaturés est formé comme suit :

Acide cis/trans-x-(radical du nombre de carbone)ènoïque :
- *cis* ou *trans* indique la conformation de l'insaturation (voir section D. page 4) ;
- x indique la position de l'insaturation ;
- le radical dépend du nombre d'atomes de carbone de l'acide gras ;
- è*n* indique qu'il s'agit d'un alcène ;
- *oïque* indique qu'il s'agit d'un acide carboxylique.

La position de la double liaison est déterminée en comptant à partir du carbone de la fonction carboxylique.

Cas des poly-insaturés Lorsque l'acide gras est poly-insaturé, la position et la conformation de chaque insaturation est explicitée. Le nom systématique est donc de la forme :

Acide cis/trans, cis/trans,...-x,y,z,...-(radical du nombre d'insaturations et du nombre de carbone)ènoïque :
- *cis* ou *trans* indique la conformation de chaque insaturation ; (voir section D. page 4) ;
- $x, y, z \cdots$ indique les positions des insaturations en partant du groupe carboxyle ;
- le radical dépend du nombre d'atomes de carbone de l'acide gras ;
- le radical dépend aussi du nombre d'insaturations : di- pour 2 insaturations, tri- pour 3, ... ;
- è*n* indique qu'il s'agit d'un alcène ;
- *oïque* indique qu'il s'agit d'un acide carboxylique.

B. Nomenclature biochimique en oméga

Dans la nomenclature normale, les atomes de carbone sont notés à partir du groupement carboxyle. Mais il existe une autre numérotation, où c'est à partir de l'autre extrémité (le méthyle terminal) de la molécule que l'on numérote la position de l'insaturation, c'est à dire le carbone ω (dernière lettre de l'alphabet grec), d'où le nom de notation en oméga **[12]**.

Cette nomenclature vient de ce qu'en biologie, les insaturations apparaissent tous les 3 carbones dans la majorité des cas (on parle de position **malonique**, voir le paragraphe ci-dessous). Ceci permet de les classer en familles.

C. Positions de la double liaison

Position malonique : quand deux doubles liaisons sont séparées par un CH_2.

Position conjuguée : quand il n'y a qu'une seule liaison covalente entre deux doubles liaisons.

Position succinique : quand deux doubles liaisons sont séparées par deux groupements CH_2.

D. Configuration Cis ou Trans

Les termes de configuration *cis* et *trans* sont dus au fait que la double liaison carbone-carbone peut adopter deux organisations différentes dans l'espace :
- lorsque les hydrogènes H sont du même côté, la liaison est dite *cis* (**figure 1.3 page 5**).
- lorsqu'ils sont de part et d'autre de la double liaison, la liaison est dite *trans* (**figure 1.4 page 5**).

L'orientation cis ou trans va modifier la structure tridimensionnelle des acides gras. Une double liaison cis crée un coude dans la chaîne carbonée, tandis que la double liaison trans a plutôt une structure étendue. Dans la nature, les acides gras ont très majoritairement une orientation *cis* **[11]**.

E. Acides gras essentiels et acides gras indispensables

Nutritionnistes Les nutritionnistes appellent les *acides gras indispensables*, les acides gras que le corps est incapable de synthétiser lui-même. Ces acides gras doivent donc être apportés obligatoirement par l'alimentation. A partir d'eux, l'organisme est ensuite capable de synthétiser les autres acides gras dont le corps a besoin pour fonctionner. Ces derniers acides gras pouvant être synthétisés prennent le nom d'*acides gras essentiels* **[13]**.

Chimistes Pour les chimistes, les acides gras sont dits *essentiels* si l'organisme en a besoin pour vivre et s'il n'est pas capable de les synthétiser lui-même. C'est en fait ceux que les nutritionnistes appellent acides gras indispensables. Les autres acides sont tout simplement appelés acides gras par les chimistes alors que les nutritionnistes les appellent acides gras essentiels. Ainsi, il faudra toujours faire attention dans l'appellation des acides gras c'est à dire si l'on se place d'un point de vue chimiste ou nutritionniste.

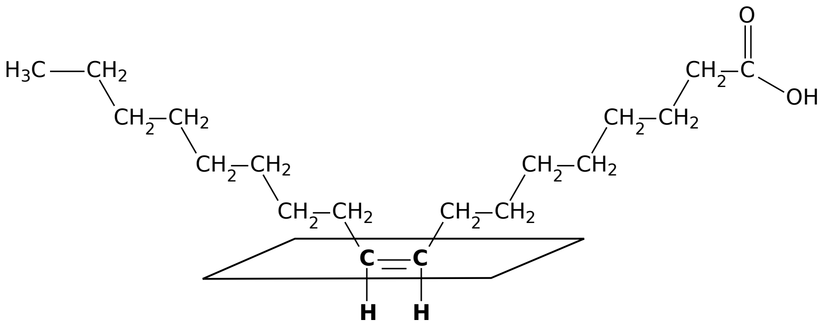


FIGURE 1.3 – Acide cis-9-octodécénoïque ou acide oléique (configuration cis)

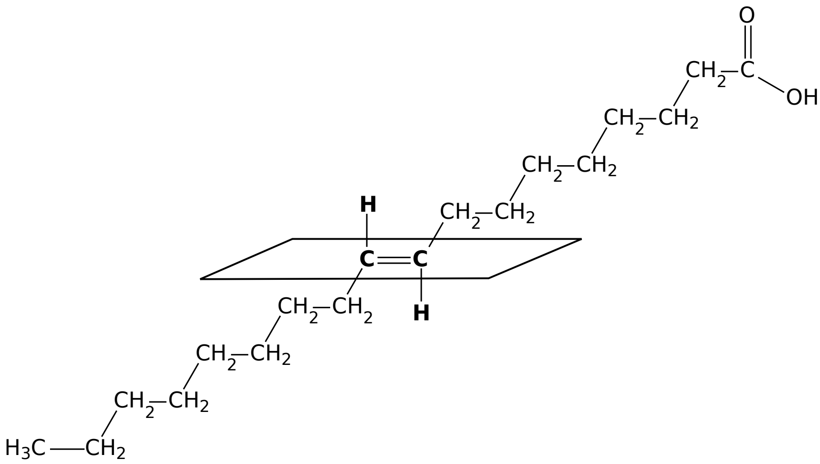


FIGURE 1.4 – Acide trans-9-octodécénoïque ou acide élaïdique (configuration trans)

F. Principaux acides gras mono-insaturés

a. Acide palmitoléique

– Nom systématique : acide cis-9-hexadécénoïque ;
– Notation : $C_{16:1}$ $\Delta 9$ ou $C_{16:1}$ ω-7 ;

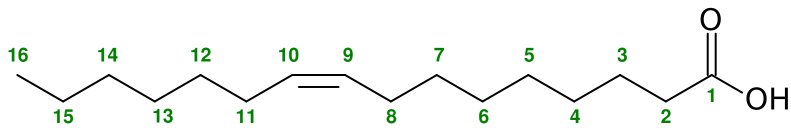


FIGURE 1.5 – Structure de l'acide palmitoléique.

b. Acide oléique

Le nom l'acide oléique vient de l'huile d'olive dont il constitue 55 à 80%.

– Nom systématique : acide cis-9-octadécénoïque ;
– Notation : $C_{18:1}$ $\Delta 9$ ou $C_{18:1}$ ω-9 ;

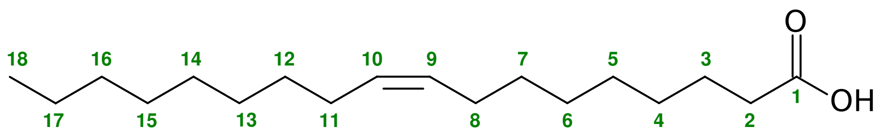


FIGURE 1.6 – Structure de l'acide oléique.

G. Principaux acides gras poly-insaturés

a. Acide linoléique

L'acide linoléique est acide gras essentiel, c'est également le précurseur de la famille des oméga-6. Le terme « précurseur » signifie que les autres acides gras de la famille peuvent être synthétisés à partir de l'acide linoléique.

- Nom systématique : acide cis-cis-9,12-octadécadiénoïque ;
- Notation : $C_{18:2}\Delta$ 9,12 ou $C_{18:2}$ ω-6 ;

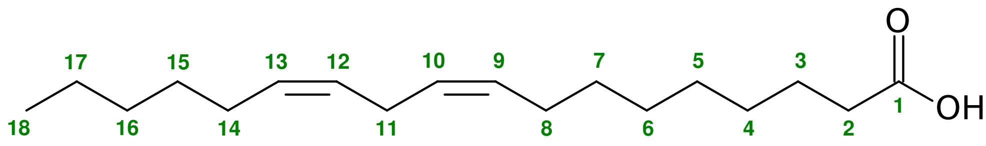


FIGURE 1.7 – Structure de l'acide linoléique

b. Acide alpha-linolénique

L'acide α-linolénique est un acide gras essentiel, c'est le principal acide gras du groupe des oméga-3.

- Nom systématique : acide cis-cis-9,12-octadécadiénoïque ;
- Notation : $C_{18:3}\Delta$ 9,12,15 ou $C_{18:3}, \omega$-3 ;

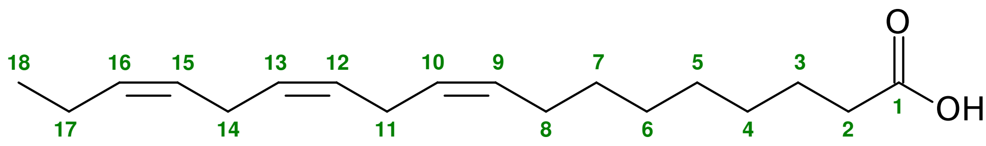


FIGURE 1.8 – Structure de l'acide linolénique

c. Acide arachidonique

La structure de l'acide arachidonique mérite d'être retenue car ce composé est le précurseur des eicosanoïdes, que nous verrons plus loin.

- Nom systématique : tout cis-5,8,11,14-éicosatétraènoïque ;
- Notation : $C_{20:4}\Delta$ 5,8,11,14 ou $C_{20:4}$ ω-6 ;

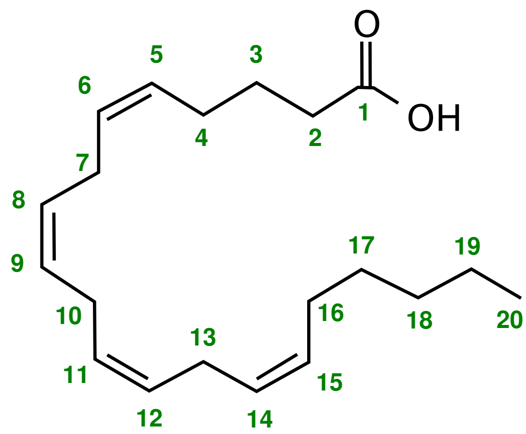


FIGURE 1.9 – Structure de l'acide arachidonique

1.1.3 Propriétés physiques

A. Masse volumique

Les masses moléculaires des acides gras sont relativement faibles, par contre, ces molécules occupent un volume important. Il en résulte que la masse volumique des acides gras est faible, cette propriété est communiquée aux lipides qui les contiennent (les matières grasses sont plus légères que l'eau) **[14]**.

B. Solubilité

La solubilité des acides gras varie selon deux paramètres : la longueur de la chaîne carbonée et la présence ou non d'une ou plusieurs insaturations. La fonction acide carboxylique donne un caractère hydrophile à la molécule, donc polaire (cela est dû à son ionisation dans l'eau à un pH supèrieur à 5,5), tandis que la chaîne carbonée en donne un lipophile, apolaire. Les acides gras sont donc **amphiphiles**. Le comportement de l'ensemble de la molécule dépend du volume occupé respectivement par les deux parties.

Quand le nombre de carbone est *inférieur à 4*, comme dans l'acide acétique, elle est assez polaire pour être soluble dans l'eau. *Au dessus de 4* carbone, la solubilité dans l'eau diminue jusqu'à devenir nulle. Au contraire les molécules d'acides gras sont solubles dans les solvants organiques apolaires comme le benzène, l'éther et le chloroforme.

Il faut noter que les acides gras insaturés sont légèrement plus solubles dans l'eau que les acides gras saturés de même nombre de carbone.

C. Point de fusion

Le point de fusion est la température à laquelle une molécule passe de l'état solide à l'état liquide. Quand le nombre de carbone dans un acide gras augmente, cela augmente la valeur du point de fusion. Par contre, la présence d'une (ou plusieurs) insaturations la fait baisser. Quand le nombre de carbone est inferieur à 10, les acide gras sont liquides à température ambiante. Quand il est supèrieur à 10, ils sont solides.

D. Point d'ébullition

Le point d'ébullition d'un acide gras est d'autant plus élevé que le nombre de carbone est important. Toutefois, la présence de double liaisons n'a aucune influence sur le point d'ébullition.

E. Monocouches, micelles

Au dessus de quatre carbones, les acides gras sont insolubles dans l'eau et s'organisent quand ils sont mis en milieux aqueux soit en **film moléculaire** à l'interface eau-air ou en **micelles** (assemblages sphériques de molécules amphiphiles, délimitant un espace intérieur lipophile et une couronne polaire) (**figure 1.10**). Les micelles apparaissent lorsque la concentration en molécules amphiphile dépasse un certain seuil. Dans un solvant organique, par exemple de l'huile, l'arrangement est inversé.

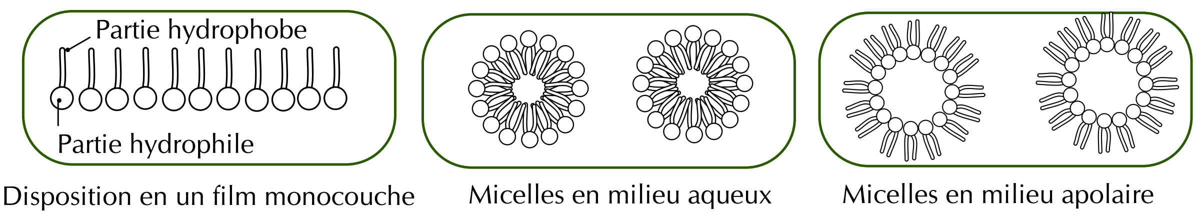


FIGURE 1.10 – Dispositions des micelles.
Domaine public

1.1.4 Propriétés chimiques

A. Neutralisation par les bases

On peut provoquer la *neutralisation* de la fonction carboxylique des acides gras par une base comme la *potasse* KOH à condition de permettre aux molécules réagissantes de se rencontrer, soit en opérant à chaud et en mélangeant fortement, soit en ajoutant de l'alcool éthylique, on dit que c'est un *solvant de miscibilité* car il leur permet de se mélanger.

Ainsi, en faisant réagir la potasse avec les acides gras il se forme un **sel d'acide gras**, que l'on appelle **savon [15]**.

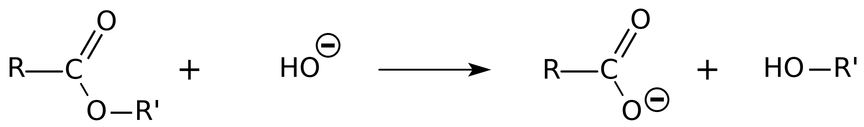


FIGURE 1.11 – Réaction de saponification.

Les savons les plus connus sont les savons proprement dits de *sodium* (savons durs) ou de *potassium* (savons mous).

B. Réaction d'esterification

Avec les alcools, les acides gras donnent des esters.

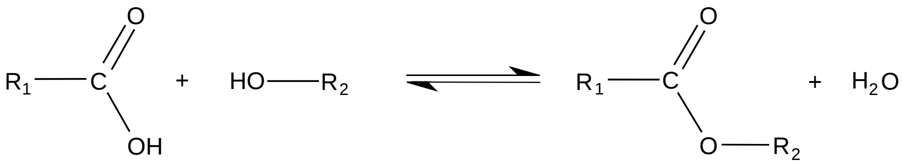


FIGURE 1.12 – Réaction d'esterification.

Les acides gras sont presque toujours présents dans les êtres vivants sous forme d'esters, unis à divers types d'alcools que nous verrons plus loin.

C. Oxydation

Les produits formés par oxydation sont différents selon le nombre d'instaurations de l'acide gras et selon la nature de l'oxydant :

– un peracide comme l'acide performique oxyde l'acide gras insaturé en époxyde (**figure 1.13**).

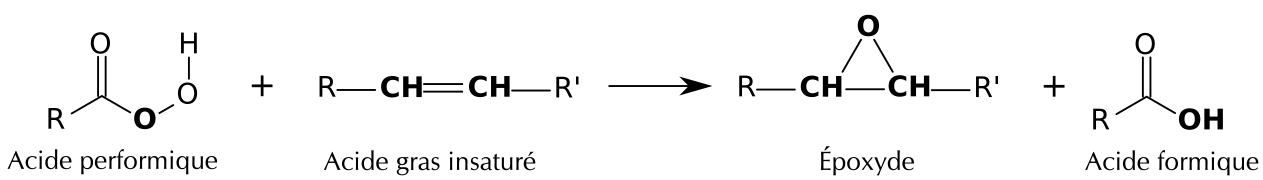


FIGURE 1.13 – Oxydation des acides gras insaturés par l'acide performique.

– un acide gras insaturé traité par un acide minéral à 50° donne un diol (deux fonctions OH adjacentes au carbone de la double liaison) (**figure 1.14**).

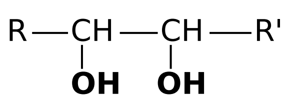


FIGURE 1.14 – Structure d'un diol.

$$H_3C-(CH_2)_n-\mathbf{CH}=\mathbf{CH}-(CH_2)_{n'}-COOH$$

Acide gras mono-insaturé

$$\downarrow \text{Oxydant puissant}$$

$$H_3C-(CH_2)_n-\mathbf{COOH} \qquad \mathbf{HOOC}-(CH_2)_{n'}-COOH$$

Monoacide Diacide

FIGURE 1.15 – Oxydation puissante.

– un acide gras insaturé traité par un oxydant puissant telle qu'une solution concentrée de $KMnO_4$ conduit à la formation de deux acides par coupure de la double liaison (**figure 1.15**).

À l'air libre, l'oxydation des huiles et des graisses insaturées (facilitée à température élevée, 60 °C), a pour résultat soit le rancissement, qui produit des peroxydes puis, par rupture de la chaîne carbonée, des composés volatils (aldéhydes ou cétones) responsables de l'odeur désagréable, et même des acides toxiques ; soit la siccativité, où les huiles polyinsaturées (comme dans l'huile de lin), par fixation du dioxygène, se polymérisent en vernis et solides imperméables (peintures à l'huile. . .). Plus le nombre de double liaisons de l'acide gras insaturé est grand, plus l'autooxydation est rapide.

Au niveau biologique, les lipides insaturés des membranes subissent des dégradations lors d'agressions oxydatives (UV, radicaux libres. . .), contrées par les antioxydants, comme la vitamine E, qui ont un effet protecteur en intervenant au stade de l'initiation de l'oxydation **[16]**.

D. Réduction (hydrogénation)

La fixation d'hydrogène sur la double liaison transforme l'acide gras insaturé en acide gras saturé. Cette réaction se fait en présence d'un catalyseur métallique (platine, nickel de Raney, palladium...).

L'hydrogénation des huiles est importante dans l'industrie agro-alimentaire car elle permet la transformation des huiles végétales ou animales en graisses solides (margarine ou substitut de lard. . .) et évite l'oxydation pendant leur utilisation (odeurs, produits toxiques...).

E. Fixation d'halogènes

Les acides gras insaturés fixent les halogènes par une réaction d'addition.

$$R-CH=CH-R' + I_2 \longrightarrow R-\underset{}{\overset{I}{\overset{|}{C}}}=\overset{I}{\overset{|}{C}}-R'$$

FIGURE 1.16 – Réaction d'addition d'iode.

Cette réaction est surtout exploitée avec l'iode et le brome pour évaluer le degré d'insaturation des acides gras. Il s'agit en fait d'une évaluation de l'aptitude des acides gras à rancir : plus il y'a des insaturations sur l'acide gras, plus il serait sensible à l'O_2.

F. Isomérisation cis-trans de la double liaison

Les doubles liaisons des acides gras insaturés sont **cis**. La double liaison s'isomérise en **trans**, lentement à température ordinaire, très vite si on chauffe.

Exemple : L'acide oléique (cis) s'isomérise en acide élaïdique (trans) qui confère un mauvais goût aux lipides.

G. Détermination des indices

Les indices sont des caractéristiques, des constantes. Pour un lipide, ce sont des nombres qui sont donnés sans unité.

L'indice d'acide I_A : L'indice d'acide d'un lipide est la quantité de *potasse en mg* (déterminé à froid) nécessaire pour neutraliser l'acidité libre contenue dans 1 g de corps gras.

La teneur en acides libres des corps gras augmente avec le temps : l'indice d'acide permet donc de juger de leur état de détérioration. Quand il est déterminé sur un acide gras pur, il permet de déterminer sa masse molaire (donc sa structure).

L'indice de saponification I_s : L'indice de saponification d'un lipide est la masse de *potasse exprimée en mg* nécessaire pour neutraliser les acides gras libres et saponifier les acides gras estérifiés contenus dans 1 g de matière grasse.

L'indice d'ester I_E : C'est le nombre de mg de potasse nécessaire pour saponifier les esters contenus dans 1g de lipide.

$$I_E = I_S - I_A$$

L'indice d'iode I_i : L'indice d'iode d'un lipide est la masse de diiode (I_2) (exprimée en g) capable de se fixer sur les double liaisons des acides gras de 100 g de matière grasse.

1.2 Les éicosanoïdes

Les éicosanoïdes sont des molécules du groupe des lipides constituées de 20 atomes de carbone. Ils dérivent d'acides gras polyinsaturés à 20 atomes de carbone. L'acide arachidonique en est le principal précurseur. Ils exercent une fonction de régulation, un rôle de médiateur dans l'activité des cellules au cours de nombreux processus comme la contraction des muscles lisses, l'agrégation plaquettaire... (les effets sont très divers). Ils sont donc considérés comme des hormones **[17]**.

Les eicosanoïdes comprennent :

1.2.1 Les prostaglandines

Les prostaglandines ont un noyau cyclopentane. Elles sont désignées par les lettres PG.

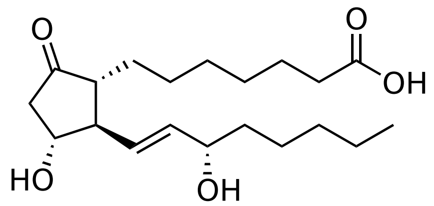


FIGURE 1.17 – Structure de la prostaglandine E1.

1.2.2 Les leucotriènes

Les leucotriènes n'ont pas de cycle mais peuvent également être représentés par une forme en épingle à cheveux. Ils sont notés LT.

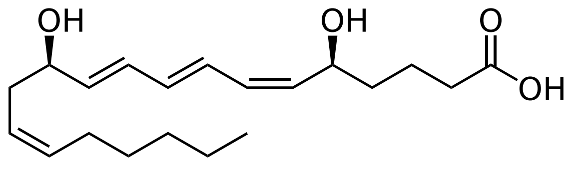


FIGURE 1.18 – Structure du leucotriène B4.

1.2.3 Les thromboxanes

Les thromboxanes sont notés TX. Ils comprennent un cycle éther héxagonal.

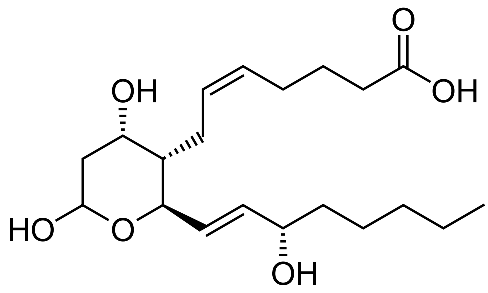


FIGURE 1.19 – Structure de la thromboxane B2.

1.3 Les alcools présents dans les lipides

Il y a dans pratiquement toutes les molécules de lipides naturels au moins une molécule d'alcool généralement estérifiée par un acide gras. On classe souvent les divers types de lipides en fonction de l'alcool qu'ils contiennent.

1.3.1 Les alcools gras

Un alcool gras est un alcool à chaîne longue aliphatique possédant pour la plupart d'entre eux un nombre pair d'atomes de carbone et sont en général saturés et non ramifiés.

Exemples d'alcools gras :
- octanol (c_8) ;
- nonanol (c_9) ;
- tétradécanol ou alcool myristylique (c_{14}) ;
- hexadécanol ou alcool cétylique (c_{16}) ;
- octadécanol ou alcool stéarylique (c_{18}).

1.3.2 Le glycérol

Le glycérol ou la glycérine (nom commun) est un triol, il possède 3 fonctions alcool. Son nom officiel est le *propan–1,2,3–triol* (ou *1,2,3–propanetriol*). C'est l'alcool le plus souvent rencontré dans les lipides.

Numérotation

Les carbones des extrémités, porteurs d'alcools primaires, sont traditionnellement numérotés α et α'. Le carbone central, porteur d'un alcool secondaire, est noté β (**figure 1.20**) **[18]**.

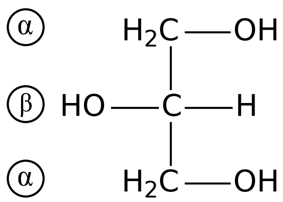


FIGURE 1.20 – Structure chimique du Glycérol.

1.3.3 Les stérols

Les stérols sont des composés *polycycliques* complexes caractérisés par la présence d'un radical appelé *cyclopentanoperhydrophénanthréne* ou *noyau stérane*, porteur d'une (ou plusieurs) fonction alcool (d'où le suffixe ol) **[19]**.

Noyau stérane Le nom cyclopentanoperhydrophénanthréne est composé de :

Cyclopentane : un carburant cyclique saturé à 5 carbones.

Phénanthrène : un carbure aromatique à 3 cycles hexagonaux accolés (accolés signifie ici que les cycles ont des côtés communs).

Perhydro : signifie complètement hydrogéné.

Le cyclopentanoperhydrophénanthréne résulte donc de l'accolement du cyclopentane à ce noyau. On nomme les 4 cycles A, B, C et D et on numérote leurs sommets de 1 à 17 (**figure 1.24**).

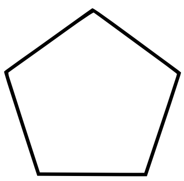


FIGURE 1.21 – Cyclopentane.

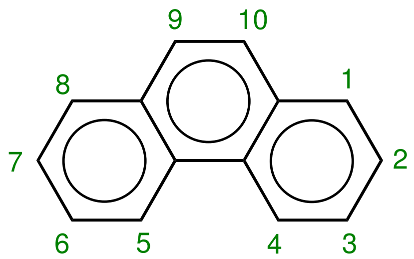


FIGURE 1.22 – Phénanthrène.

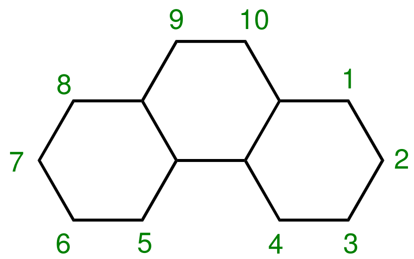


FIGURE 1.23 – Perhydrophénanthrène.

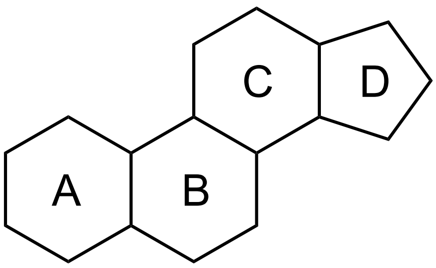


FIGURE 1.24 – Structure du Stérane.

A. Le cholestérol

Le cholestérol est un lipide de la famille des stérols, c'est le principal stérol animal et également un précurseur de nombreuses molécules. Il est absent des végétaux et des micro-organismes.

Structure chimique Le cholestérol porte sur le noyau stérane :

- *2 chaînes latérales* $-CH_3$ portées par les C_{10} et C_{13}. Comme elle sont placées dans les angles de la structure, on les appelle méthyles angulaires ;
- une *fonction alcool* en C_3 ;
- une *double liaison* en C_{5-6} ;
- une *chaîne carbonée* à 8 atomes de carbone fixé sur le C_{17}. Cette chaîne comporte *2 ramifications*.

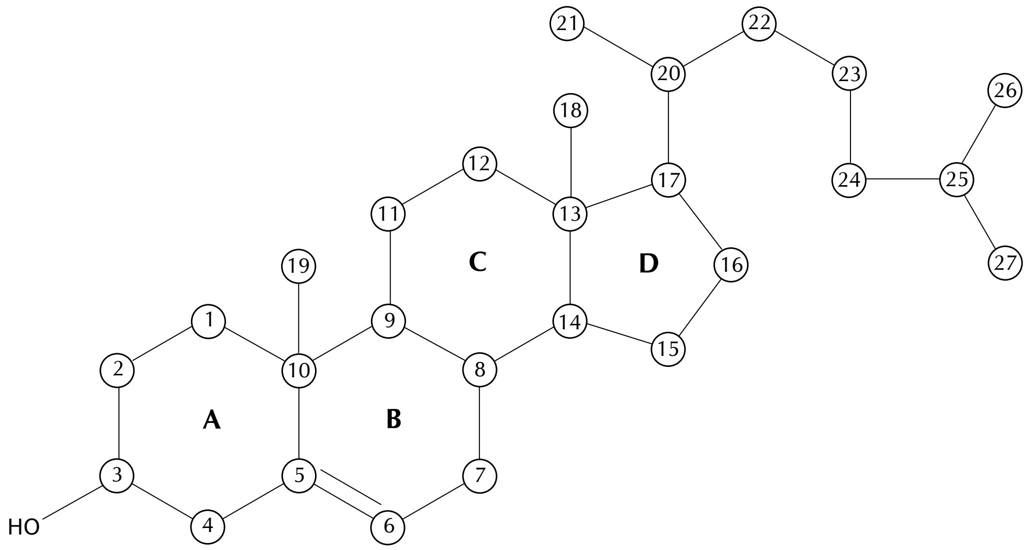


FIGURE 1.25 – Structure du Cholestérol.

1.3.4 L'inositol

L'inositol est un composé cyclique qui contient 6 fonctions alcools. Il dérive du carbure saturé cyclohéxane par 6 substitutions d'un H par un OH, d'où son nom *cyclohexanehexol* (**figure 1.26**).

Il y a 9 isomères possibles qui diffèrent par position du OH par rapport au plan (au dessus ou en dessous). L'isomère appelé *myoinositol* (**figure 1.26**) est largement prédominant dans les lipides naturels. Le préfixe *myo* signifie qu'on l'a trouvé d'abord dans le muscle **[20]**.

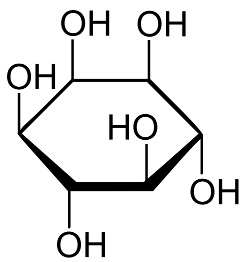


FIGURE 1.26 – Structure du myoinositol.

1.3.5 Sérine et alcools aminés

A. Sérine

La sérine est un acide aminé alcool, dont le nom en nomenclature systématique est *acide 2-amino-3-hydroxypropanoïque* (**figure 1.27**). Le groupement OH de la chaîne latérale peut être estérifié en présence d'un groupement phosphate.

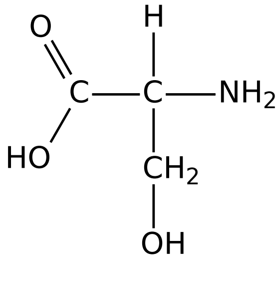


FIGURE 1.27 – Structure de la sérine.

Quand la sérine se décarboxyle (c'est à dire perd un CO_2 à partir de sa fonction carboxyle) il reste l'éthanolamine.

B. Éthanolamine

L'éthanolamine, également appelée *2-aminoéthanol* ou *monoéthanolamine* (**figure 1.28**), est un composé chimique organique qui est à la fois une amine primaire (par son groupe amine) et un alcool primaire (par son groupe hydroxyle).

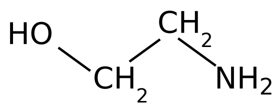


FIGURE 1.28 – Structure de l'éthanolamine.

La fixation de trois groupements méthyl sur la fonction azotée de l'éthanolamine fait apparaître la choline.

C. Choline

La choline est un composé qui porte une fonction alcool et une fonction amine quaternaire. C'est une molécule chargée positivement. La choline est aussi connue sous le nom de *2-hydroxyéthyl-trimethyl ammonium* (**figure 1.29**).

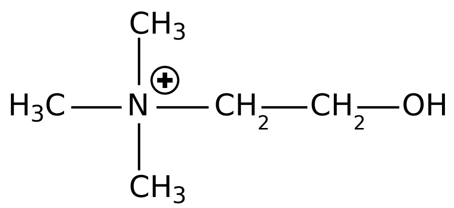


FIGURE 1.29 – Structure de la choline.

1.3.6 La sphingosine

C'est un dialcool gras complèxe qui comporte 2 fonctions alcool, une fonction amine et une double liaison (**figure 1.30**) **[21]**.

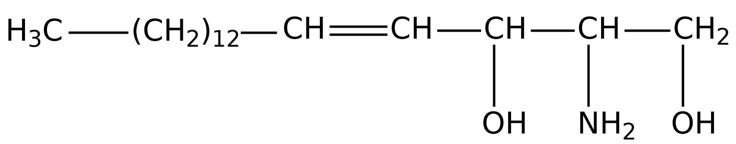


FIGURE 1.30 – Structure de la sphingosine.

1.4 Les lipides simples

Les lipides simples ou homolipides sont les lipides qui ne contiennent que du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène, ce sont des composés ternaires. Ce sont souvent des esters d'un alcool et d'acides gras. Les lipides simples sont classés en trois groupes : les *glycérides*, les *cérides* et les *stérides*.

1.4.1 Les glycérides

Les glycérides, ou *acylglycérols* dans la nomenclature internationale, sont des *esters d'acide gras et de glycérol*. Selon le nombre d'acides gras combinés au glycérol, on distingue les *monoglycérides*, les *diglycérides* et les *triglycérides*.

Monoglycérides : pour les monoglycérides, la liaison ester est établie soit sur l'une des fonctions alcool primaire (monoacylglycérol α) soit sur l'alcool secondaire (monoacylglycérol β).

Diglycérides : pour les diglycérides, on parlera d'(α, α') diacylglycérol ou de (α, β) diacylglycérol.

Triglycérides : pour les triglycérides, quand les trois radicaux acyl sont identiques, ont dit que le triglycéride est *homogène*. Dans le cas contraire il est dit *mixte*.

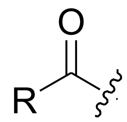


FIGURE 1.31 – Groupement acyle.

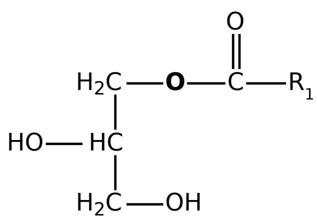


FIGURE 1.32 – Monoacylglycérol.

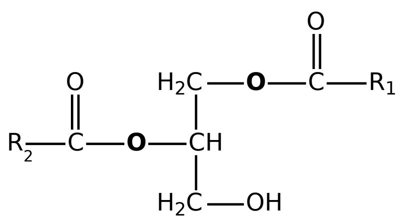


FIGURE 1.33 – Diacylglycérol.

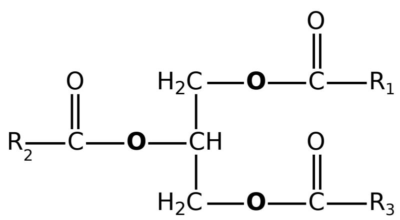


FIGURE 1.34 – Triacylglycérol

A. Rôles biologiques

Les acylglycérols servent principalement de réserve chez les animaux et les végétaux. Leur catabolisme par oxydation libère une énergie deux fois plus forte que celle du glycogène.

Les acylglycérols servent aussi d'isolants thermiques dans les tissus adipeux sous-cutanés, d'émulsifiants et de messagers.

B. Nomenclature

On donne aux glycérides des noms officiels basés sur le principe que les radicaux acyl sont les substituants du glycérol. On indique sur quelle fonction alcool du glycérol a lieu l'estérification par chaque type d'acide gras en précisant à l'aide des numéros des atomes de carbone (dans la nomenclature internationale on n'utilise pas les lettres grecques α et β).

Exemple : *1,3-distréaryl-2-palmitylglycérol* ou *1,3-dioctadecanoyl-2-hexadecanoylglycérol*.

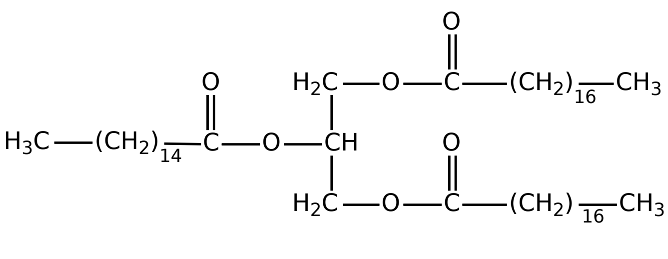


FIGURE 1.35 – Structure du 1,3-distréaryl-2-palmitylglycérol.

Les radicaux *stéaryl*, *palmiyl*, *oléyl*, *palmitoléyl* sont le plus souvent rencontrés.

C. Propriétés physiques

Solubilité : la propriété physique dominante est le caractère complètement **apolaire** des acylglycérols naturels, essentiellement des triacylglycérols. Les groupes polaires (hydroxyle ou carboxyle) disparaissent dans les liaisons esters. Ils sont insolubles dans l'eau et très solubles dans les solvants les plus apolaires comme l'acétone **[22]**.

Activité optique : le pouvoir rotatoire, également appelé **activité optique**, est la propriété qu'ont certains milieux de faire tourner le vecteur lumineux d'un faisceau lumineux les traversant. Un carbone asymétrique (c'est à dire dont les 4 substituants sont différents) confère à la molécule un pouvoir rotatoire.

Les 1-monoglycérides, les 1,2-diglycérides et les glycérides mixtes possèdent un carbone asymétrique (le carbone central du glycérol). Ils sont donc optiquement actifs.

Les notions d'activité optique seront traitées plus en détail dans le chapitre suivant.

D. Propriétés chimiques

Hydrolyse : le traitement acide (H_2SO_4 à 5%) provoque la rupture des liaisons ester et libère les constituants : les acides gras et le glycérol, mais en général de façon incomplète.

En milieu enzymatique, les lipases comme la **lipase pancréatique** coupent les liaisons esters. Cette hydrolyse se fait en 3 étapes : les 2 premières sont rapides avec libération des acides gras en α et α', lors la 3e, le β-monoglycéride est transformé en acide gras et glycérol.

Saponification : les bases (hydroxyde de sodium ou de potassium) en solution alcoolique, à chaud, coupent les liaisons esters des glycérides en libérant les acides gras sous forme de sels de sodium (savons durs) ou de potassium (savons mous) (**figure 1.36**).

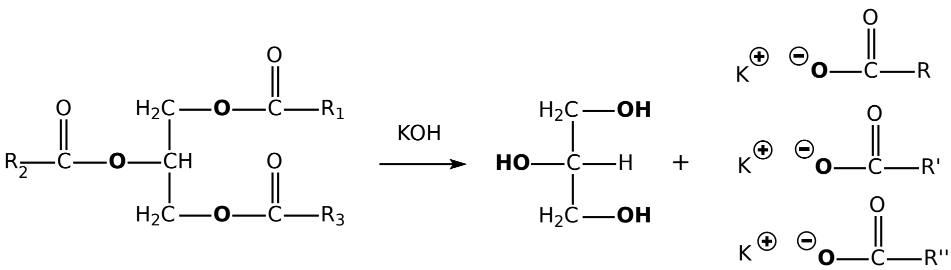


FIGURE 1.36 – Réaction de saponification.

1.4.2 Les cérides

Les cérides doivent leur nom générique au fait qu'ils sont les principaux constituants des *cires* animales, végétales et bactériennes. Les cérides sont des *monoesters d'acides gras et d'alcools gras*.

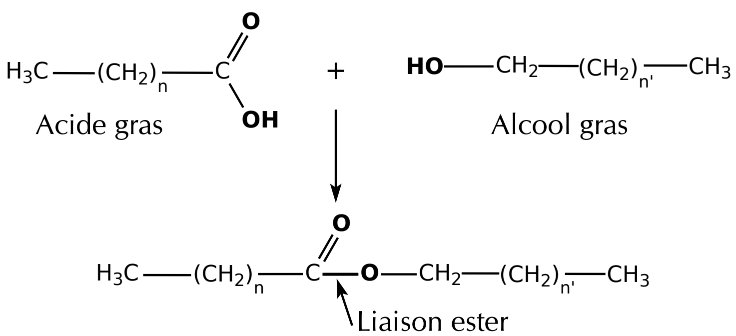


FIGURE 1.37 – Structure des cérides.

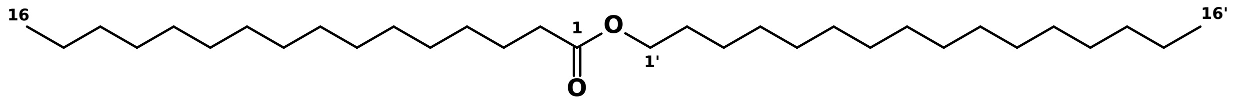


FIGURE 1.38 – Molécule de palmitate de cétyle.

A. Composition

La composition des cires est relativement complexe, elles contiennent à côté de différents cérides, des alcools et acides gras libres et souvent des hydrocarbures saturés à longue chaîne.

Il est à noter que les animaux supérieurs et l'homme ne métabolisent pas les cires, seuls les insectes en sont capables.

B. Propriétés

La structure à deux longues chaînes carbonées saturées fait des cérides des composés **[23]** :
– à température de fusion élevée (60 à 100°C) et solides à température ordinaire ;
– à très forte insolubilité dans l'eau (très apolaires) : ils sont seulement solubles à chaud dans les solvants organiques ;
– inertes chimiquement : ils résistent aux acides et à la plupart des réactifs et sont difficilement saponifiables.

C. Rôles biologiques

Les propriétés énumérées dans le paragraphe précédent en font des molécules essentielles des « revêtements » de protection des organismes vivants **[24]** :
– enduit imperméabilisant les plumes d'oiseaux aquatiques. On les trouve aussi dans la peau des animaux marins et dans les fourrures ;
– cuticule des feuilles brillantes (houx, carnauba, palmier américain...) ;
– pellicule de fruits qui a un rôle de prévention contre l'évaporation, le développement de moisissures et l'infection par des parasites ;
– paroi résistante de bacilles.

1.4.3 Les stérides

Les stérides sont des *esters d'acides gras et de stérols* (souvent du cholestérol). On appelle spécifiquement les stérides du cholestérol les *ester de cholestéryle*.

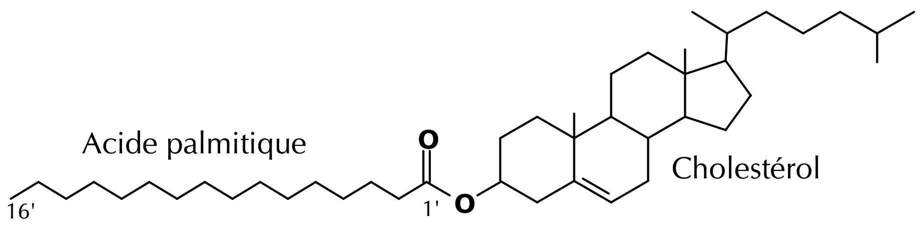


FIGURE 1.39 – Molécule de palmitate de cholestéryle.

In vivo, les stérides sont présents dans les membranes cellulaires, toutefois ils y sont relativement peu abondants par comparaison avec les phospholipides. Les tissus d'animaux contiennent peu de stérides au contraire du plasma sanguin.

Le cholestérol et ses formes estérifiées sont transportés avec les autres lipides sous la forme d'associations non covalentes : les **lipoprotéines** (voir section lipoprotéines).

Les esters de cholestérol alimentaire sont hydrolysés par une **cholestérolester hydrolase** du suc pancréatique **[25]**.

1.5 Les lipides complexes

Les lipides complexes sont des lipides qui contiennent en plus du carbone, hydrogène et oxygène un ou plusieurs *hétéroatomes* (azote, phosphore, soufre).

On appelle *phospholipides* (ou lipides phosphorés) les composés lipidiques contenant du phosphore. On désigne sous ce terme l'ensemble des *glycérophospholipides*, des *phosphosphingolipides* et des *phosphoglycolipides*.

1.5.1 Glycérophospholipides

Les *glycérophospholipides*, également appelés *phosphoglycérides* ou *phosphoacylglycérols*, sont les lipides les plus nombreux et les plus représentés. Ils contiennent du glycérol et du phosphate, ainsi que des acides gras et certains alcools particuliers. On peut les considérer comme des dérivés de l'*acide phosphatidique* (**figure 1.40**).

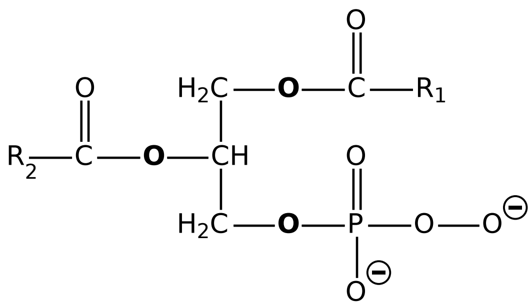


FIGURE 1.40 – Molécule d'acide phosphatidique.

Les acides phosphatidiques n'existent que très rarement à l'état naturel. Ce sont leurs dérivés, où une fonction acide de l'acide phosphorique est estérifiée par un alcool, souvent noté **X**, qui sont les plus nombreux.

A. Phosphatidylsérines

Les phosphatidylsérines sont des constituants des membranes plasmiques. Chez les mammifères, on les rencontre principalement du côté intracellulaire. Elles possèdent une charge nette négative.

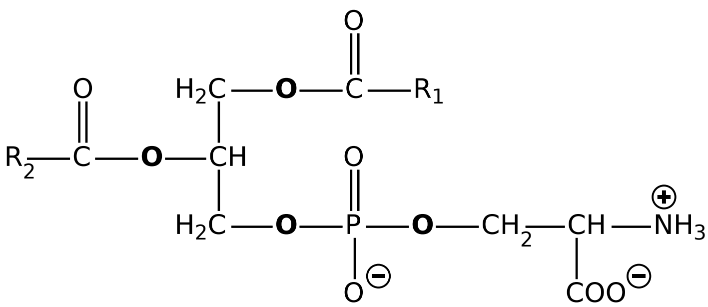


FIGURE 1.41 – Structure des phosphatidylsérines.

B. Phosphatidyléthanolamines

Les phosphatidyléthanolamines étaient anciennement appelés *céphalines*.

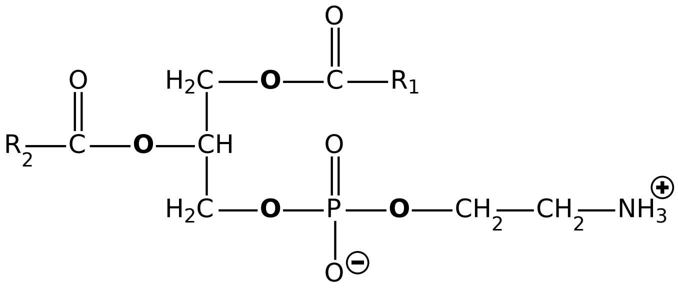


FIGURE 1.42 – Structure des phosphatidyléthanolamines.

C. Phosphatidylcholines

Les phosphatidylcholines sont plus connues sous le nom de *lécithines*. Ce sont des molécules *amphotères* et *bipolaires*.

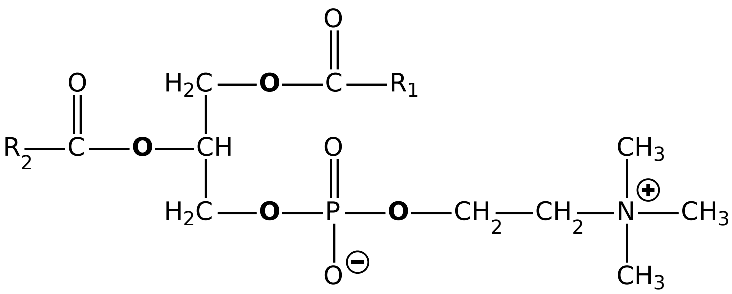


FIGURE 1.43 – Structure des phosphatidylcholines.

D. Phosphatidyinositols

Les phosphatidyinositols ou *inositides* sont des constituants de toutes les membranes biologiques.

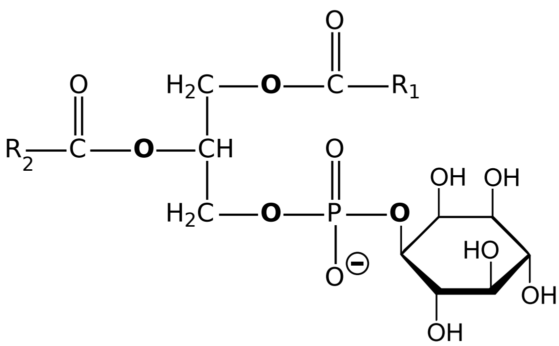


FIGURE 1.44 – Structure des phosphatidylinositols.

E. Phosphatidylglycérols

Les phosphatidylglycerols sont présents dans les poumons et sur les membranes bactériennes.

Les *cardiolipides* (ou cardiolipines en anglais) sont des lipides ayant une structure complexe dérivant de celle du phosphatidylglycérol (**figure 1.46**). Ils représentent 18% des molécules de la membrane interne de la mitochondrie. Ils ont été isolés pour la première fois du tissu cardiaque qui est très riche en mitochondries.

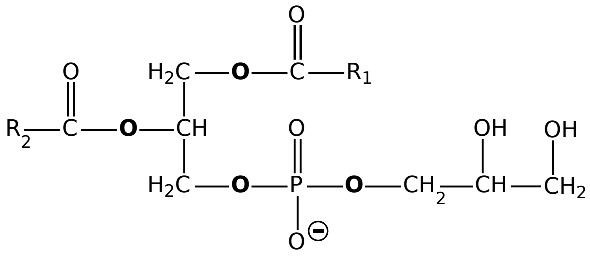


FIGURE 1.45 – Structure des phosphatidylglycerols.

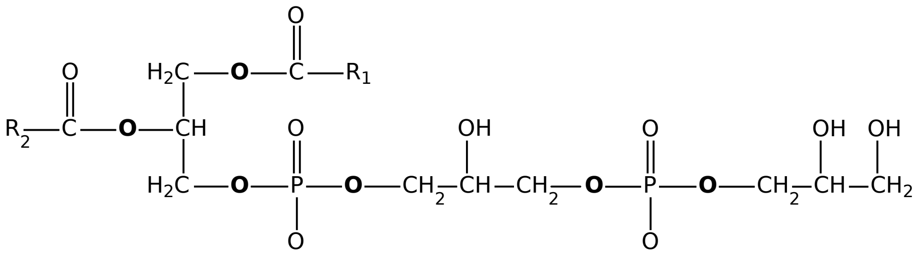


FIGURE 1.46 – Structure des cardiolipides.

F. Plasmalogènes

Les plasmalogènes font partie de la famille des phospholipides. Ils sont constitués d'une *base glycérol*, à laquelle se lie sur le premier carbone un *alcool gras* (par une liaison vinyl–éther), sur le deuxième carbone se lie un *acide gras* et sur le troisième carbone se lie, par l'intermédiaire d'un phosphate, un alcool comme la *choline*, l'*éthanolamine*, la *sérine* ou l'*inositol* (**figure 1.47**).

Les plus abondants dans l'organisme humain sont les plasmalogènes avec un groupement choline (cœur) et les plasmalogènes avec un groupement éthanolamine (cerveau) **[26]**.

L'alcool gras est le plus souvent insaturé en 1,2.

1.5.2 Glycéroglycolipides

Les carbones C_1 et C_2 du glycérol sont estérifiés par des acides gras. L'alcool du carbone C_3 à la différence des acylglycérols n'est pas estérifié mais lié à un ose par une *liaison osidique* (**figure 1.48**). Ces lipides sont très rares dans le monde animal mais sont beaucoup plus nombreux dans le monde végétal. Ils sont également présent chez certaines bactéries **[27]**.

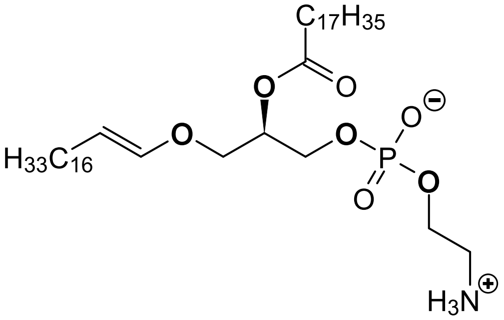


FIGURE 1.47 – Structure d'un phosphatidylethanolamine plasmalogène.

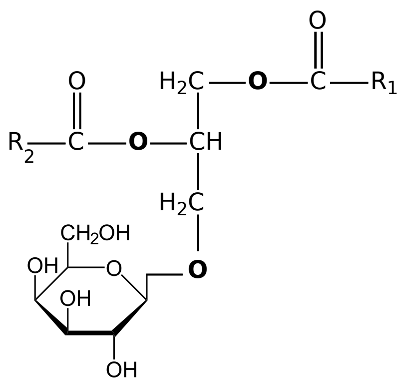


FIGURE 1.48 – Structure d'un glycéroglycolipides (1,2–diacyl-3-galactosylglycérol).

1.5.3 Sphingolipides

Les sphingolipides forment un groupe complexe dans lequel la sphingosine joue un rôle central. On les subdivise en deux sous-groupes suivant qu'ils contiennent du phosphate ou non.

Un détail structural particulier doit être retenu : bien que la sphingosine comporte deux fonctions alcool, c'est *toujours sur la fonction amine que se fixe l'acide gras*.

A. Céramide

Les céramides sont dérivés des *sphingosines* par fixation (acylation) d'un *acide gras* sur le *groupe amine* (**figure 1.49**). L'acide gras peut être α hydroxylé (OH en C_2). Il s'agit des précurseurs des lipides de ce groupe. La classification des sphingolipides est basée sur la nature du groupement R_2 liée à l'hydroxyle 1.

Les céramides ont d'abord été isolés du cerveau, d'où leur nom, et l'on a cru un moment, que ces substances lui étaient spécifiques, mais plus tard, ces composés ont été trouvés dans d'autres organes **[28]**.

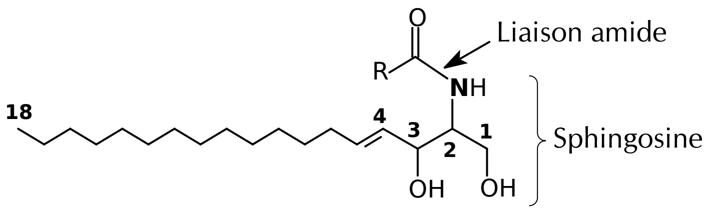


FIGURE 1.49 – Structure des céramides.
R- : Groupement acyl d'un acide gras.

B. Sphingomyéline

Ce sont les sphingolipides contenant du phosphate. Elles doivent leur nom à leur première mise en évidence dans la gaine des axones myélinisée. L'alcool *primaire* de la sphingosine est estérifié par la partie phosphate de la *phosphocholine* (**figure 1.50**) **[29]**.

L'acide gras qui s'attache à la sphingosine est généralement l'*acide lignocérique* saturé à 24 carbones.

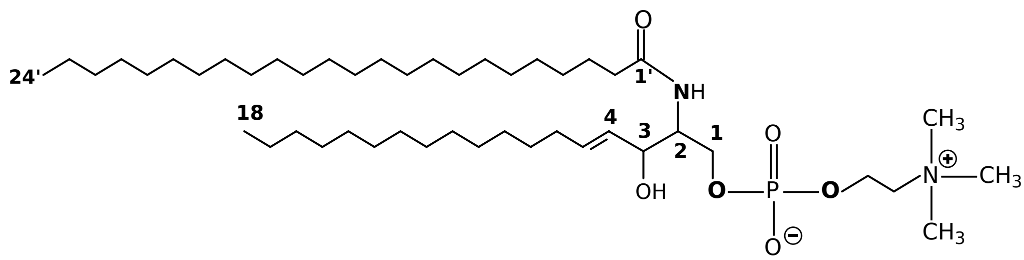


FIGURE 1.50 – Structure des sphingomyelines.

C. Cérébroside

Les cérébrosides sont des glycosphingolipides. Ils sont dépourvus de phosphate et sont constitués d'un *céramide* lié par une *liaison osidique* à un ose (**figure 1.51**).

Ces oses peuvent être le galactose (galactosylcéramide), le glucose (glucosylcéramide) ou le lactose [2] (lactosylcéramide). Il existe des cérébrosides dans les lipides du cerveau mais on en trouve également dans la plupart des cellules **[30]**.

2. lactose = glucose + galactose

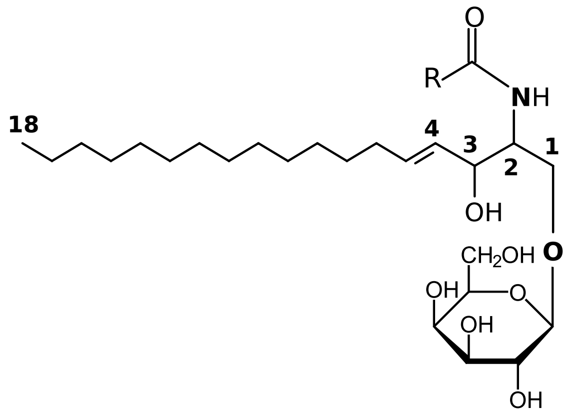


FIGURE 1.51 – Structure des cérébrosides.

D. Ganglioside

Les gangliosides sont des lipides beaucoup plus complexes que les précédents. Dérivant des céramides, ils contiennent la sphingosine, un groupement acyl dérivé d'un acide gras (souvent en C_{24}) et une *chaîne glucidique* attachée sur l'alcool primaire, formée de galactose, de glucose et d'acide sialique (en abrégé NANA : N-Acetyl-Neuraminic Acid). Leur nom est dû au fait qu'ils furent identifiés dans les membranes des cellules ganglionnaires du système nerveux.

Ces gangliosides sont répandus dans le tissu nerveux. On les trouve aussi à la surface externe de la membrane plasmique de nombreux types cellulaires où ils peuvent jouer le rôle de récepteurs **[31]**.

1.5.4 Propriétés physiques des glycérophospholipides

Solubilité : les glycérophospholipides sont solubles dans les solvants organiques sauf l'acétone, ce qui permet de les séparer des autres phospholipides.

Ionisation : les glycérophospholipides sont des corps ionisés à pH physiologique (pH du sang).

Propriétés amphiphiles : les glycérophospholipides sont des molécules amphiphiles car elles présentent 2 pôles : l'un hydrophobe dû aux acides gras ; l'autre hydrophile dû à l'ester phosphorique.

Un phosphoacylglycérol est habituellement représenté avec une boule (pour la tête polaire) et deux pattes (pour les deux queues hydrophobes) (**figure 1.52**).

Propriétés amphotères : certains glycérophospholipides sont amphotères car ils possèdent à la fois :
- une fonction acide apportée par H_3PO_4 ;
- une fonction basique apportée par la sérine, l'éthanolamine ou par la choline.

Aspect : purs, les glycérophospholipides sont des solides blanc-jaune cireux qui s'oxydent en devenant brunâtre et se polymérisent à l'air.

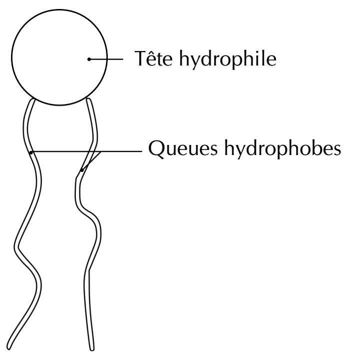


FIGURE 1.52 – Représentation schématique de quelques phospholipides.

1.5.5 Propriétés chimiques des glycérophospholipides

Hydrolyse enzymatique : les *phospholipases* sont des enzymes hydrolysant les liaisons esters des phospholipides. Il existe *quatre liaisons* ester dans un phospholipide. On distingue donc plusieurs enzymes selon leur *site d'action* sur la molécule.

Phospholipase A_1 **:** enlève l'acide gras lié à la fonction alcool primaire du glycérol.

Phospholipase A_2 **:** enlève l'acide gras lié à la fonction alcool secondaire du glycérol, libérant l'acide gras estérifié sur le carbone β du glycérol et un *monoacyl-glycérophospholipide*, encore appelé **lysolecithine** (ou lysophosphoglycéride) en raison de son action hémolytique et cytolytiques (ils détruisent les hématies et les cellules par désorganisation des membranes en s'y incluant), ce qui en fait des composés toxiques à forte concentration. Cette phospholipase est présente dans le foie, le pancréas et dans les venins (serpents, abeilles...).

Phospholipase C **:** intervient sur la fonction ester liant le glycérol et le phosphate, libérant un diglycéride et un phosphoalcool.

Phospholipase D **:** hydrolyse la fonction ester entre la fonction acide du phosphate et l'alcool, libérant un phosphatidate et un alcool.

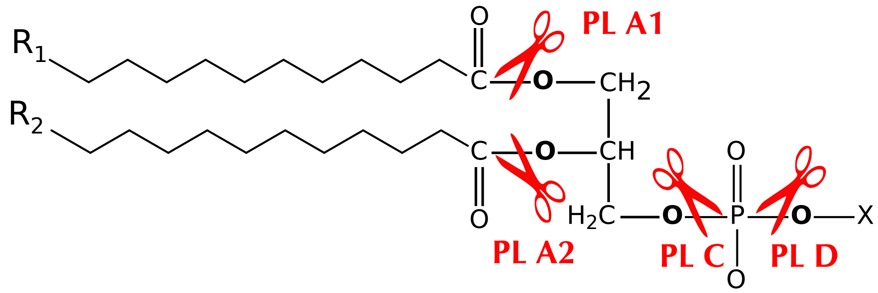


FIGURE 1.53 – Action des différents groupes de phospholipases sur les phospholipides.

1.6 Les lipides polyisopréniques (lipides insaponifiables)

Les lipides *polyisopréniques* sont des lipides à base d'*isoprène* qui jouent un rôle biologique fondamental (hormones et vitamines). Ces lipides sont aussi appelés *lipides insaponifiables*, par opposition aux lipides étudiés précédemment qui sont *dits saponifiables*, en raison de la présence d'acides gras.

Isoprène L'isoprène est le précurseur commun de ces lipides. Il s'agit d'un hydrocarbure en C_5 (**figure 1.54**), son nom chimique est le *2-méthyl buta-1,3-diène*.

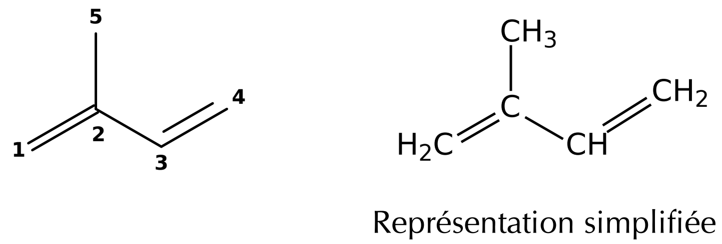


FIGURE 1.54 – Structure chimique de l'isoprène.

L'isoprène est synthétisé à partir de l'acétyl-CoA par condensation.

1.6.1 Terpénoïdes

Les terpènes sont des hydrocarbures résultant de la combinaison de plusieurs unités isoprène. Les terpénoïdes peuvent être considérés comme des terpènes modifiés et peuvent être classés selon leur nombre d'unités isoprène :

Monoterpénoïdes, 2 unités isoprène (C_{10}) : l'ocimène (basilic) et le géraniol sont des monoterpènes acycliques alors que le limonène (citron) est un monoterpène cyclique.

Sesquiterpénoïdes, 3 unités isoprène (C_{15}) : très nombreux dans le règne végétal.

Diterpénoïdes, 4 unités isoprène (C_{20}) : sont à la base d'une catégorie de molécules de grande importance biologique, comme la Vitamine A (A_1 et A_2), le phytol, une des chaînes latérales de la chlorophylle. On trouve aussi une chaîne diterpénique dans les vitamines liposolubles E et K.

Triterpénoïdes, 6 unités isoprène (C_{30}) : les stérols (cholestérol, squalène...) sont des dérivés de triterpènes.

Polyterpénoïdes (plus de 40 C) :

Les dolichols : les dolichols fixent par leur groupe alcool des oses. Ils ont entre 17 et 21 unités isoprènes chez les animaux et servent essentiellement de bras, lors de la N-glycosylations des protéines [3].

Les caroténoides : ce sont des tétraterpènes (C_{40}), formés de deux moitiés diterpènes, dont les différentes structures sont classées en :
- Carotènes : qui sont pour les animaux les précurseurs indispensables de la vitamine A liposoluble.
- Xanthophylles : qui sont des dérivés oxydés.

Le caoutchouc : c'est un polymère d'une centaine d'unités dont la double liaison dans l'unité isoprénique est en conformation cis.

3. La N-glycosylation sera étudiée en cytologie durant le 2e semestre.

1.6.2 Les quinones isopréniques

On trouve des isoprènes dans des composés à activité biologique pour lesquels cette chaîne forme un bras (isoprénique). Parmi ces composés, on trouve certaines quinones.

Ubiquinones : on les trouve dans les membranes des mitochondries animales, elles jouent un rôle de transporteurs d'électrons.

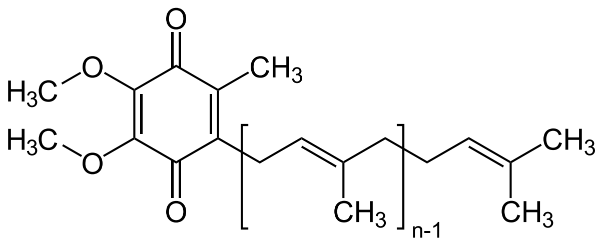


FIGURE 1.55 – Structure chimique d'une ubiquinone.

Plastoquinones : elles appartiennent à la membrane des chloroplastes des végétaux, jouant un rôle de transporteurs d'électrons dans la chaîne d'oxydo-réduction photosynthétique.

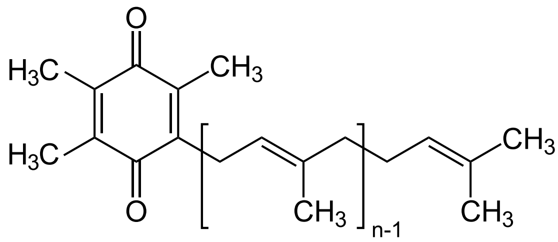


FIGURE 1.56 – Structure chimique d'une plastoquinone.

Vitamines K : les vitamines K forment un groupe de vitamines intervenant essentiellement dans la coagulation sanguine mais aussi dans le métabolisme des os et d'autres tissus.

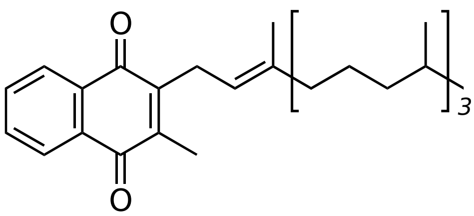


FIGURE 1.57 – Structure chimique de la vitamine K_1 (phylloquinone).

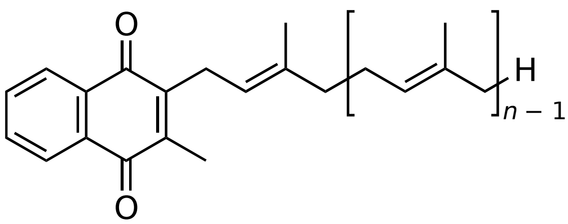


FIGURE 1.58 – Structure chimique de la vitamine K_2 (menaquinone).

Les tocophérols ou vitamines E : elles assurent une protection des acides gras polyinsaturés essentiels, des acides gras des membranes et des lipoprotéines contre l'agression oxydante qui les dégrade : ce sont des *antioxydants*.

1.6.3 Les stéroïdes

Leur squelette est un carbure tétracyclique : le *stérane* (cyclopentanoperhydrophénantrène), résultat de la condensation du cyclohexane sur le phénantrène réduit. Les stéroïdes diffèrent les uns des autres par la nature et la position des différents groupements portés par ce noyau, par la présence éventuelle de double liaisons et leur nombre. Les stéroïdes naturels sont répartis en quatre séries :

- les stérols ;
- les acides et sels biliaires ;
- les hormones stéroïdiennes ;
- les vitamines D et autres dérivés.

A. Les stérols

Ils ont déjà été mentionnés dans le sous-groupe des stérides des lipides simples. Le cholestérol est le principal stérol d'origine animale, il est aussi le précurseur de nombreux stéroïdes, hormones sexuelles et corticosurrénaliennes, d'acides et sels biliaires, et de la vitamine D.

Dans les tissus animaux le précurseur du cholestérol est le *lanostérol* (**figure 1.59**).

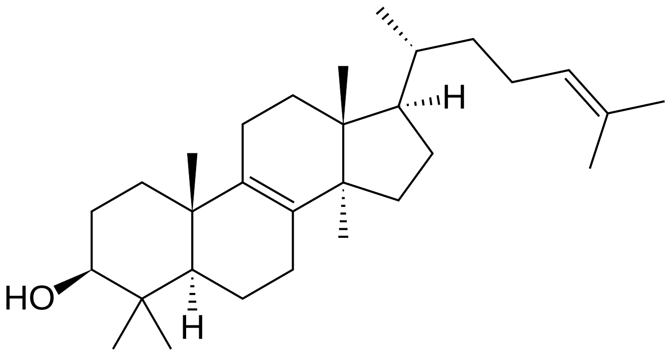


FIGURE 1.59 – Structure chimique du lanostérol.

B. Les acides et sels biliaires

Ce sont des sels d'acides provenant du cholestérol puis condensés (ou conjugués) avec un acide carboxylique ou un dérivé. Synthétisés par le foie et concentrés dans la bile, les sels biliaires ont deux fonctions :

- émulsification des lipides permettant leur digestion enzymatique dans l'intestin par la lipase pancréatique (propriétés des corps amphiphiles) ;
- élimination du cholestérol.

C. Les hormones stéroïdiennes

Ces molécules sont présentes chez les animaux et les végétaux et sont des molécules « informatives », des régulateurs de métabolisme ou des médiateurs cellulaires. Elles dérivent toutes du cholestérol par réaction de coupure sur la chaîne latérale, ou par hydroxylation ou oxydation.

D. Stéroïdes surrénaliens

Dans les surrénales, le cholestérol est converti en progestérone puis en hormones *corticosurrénales*.

Minéralocorticoides : ils jouent un rôle important dans la régulation du métabolisme hydro-minéral (réabsorption par le rein de l'eau et du sodium). Le principal minéralocorticoïde endogène chez l'homme est l'*aldostérone*.

Glucocorticoides : le *cortisol* est l'un des plus importants, il favorise la synthèse du glycogène au dépend des protéines, c'est un puissant immunosuppresseur et anti-inflammatoire.

E. Stéroïdes sexuels

Le terme stéroïde sexuel est utilisé comme synonyme d'hormone sexuelle. Les stéroïdes sexuels jouent un rôle important dans les changements du corps, que l'on appelle caractères sexuels primaires et secondaires.

Les deux principales classes de stéroïdes sexuels sont les *androgènes* et les *œstrogènes*, les plus importants (chez les humains) étant respectivement la *testostérone* et l'*œstradiol*.

Dans les organes génitaux, le cholestérol est converti en *testostérone*, qui est le précurseur des œstrogènes, les hormones sexuelles femelles.

Les œstrogènes sont au nombre de trois : l'*œstrone* (E1), *œstradiol* (E2) et *œstriol* (E3). À concentration égale, l'E2 exerce un effet biologique plus puissant que l'E1 qui lui est plus puissant que l'E3.

F. Vitamines D

La vitamine D est une vitamine liposoluble (soluble dans les graisses) qui intervient dans l'absorption du calcium et du phosphore par les intestins, ainsi que dans leur réabsorption par les reins. Elle existe sous deux formes : D2 (ergocalciférol) ou D3 (cholécalciférol).

Le stock en vitamine D peut avoir deux origines :

Un apport exogène : celui-ci se fait à partir de l'absorption de la vitamine D contenue dans l'alimentation.

Un apport endogène : synthétisée dans l'organisme humain. Sous l'action des rayonnements UVB de la lumière, un dérivé du cholestérol est converti en *cholécalciférol* encore inactif. S'ensuit une autre transformation au niveau du foie puis une seconde au niveau des reins ou il est transformé en vitamine D active.

1.7 Les lipoprotéines

Des lipides comme les phospholipides, triacylglycérols et le cholestérol ne sont que très peu solubles en solutions aqueuses. Ainsi, ils s'associent à des strucures complexes par des interactions non covalentes pour former des *lipoprotéines*, qui assureront leur transport dans le plasma sanguin.

1.7.1 Structures des lipoprotéines

Les lipoprotéines sont des particules globulaires de type micelles, constituées d'une :

Coque externe : il s'agit d'une monocouche de phospholipides contenant du cholestérol libre et une ou plusieurs molécules protéiques appelées *apolipoprotéines* (qui sont au nombre de 7 et nommés de A à G).

Partie centrale : contient des triglycérides, des esters de cholestérol et de petites quantités d'autres substances hydrophobes, comme des vitamines liposolubles.

1.7.2 Classifications des lipoprotéines

Les lipoprotéines sont classées en cinq grandes catégories en fonction de leurs rôles et de leurs propriétés physiques.

Les chylomicrons : les chylomicrons sont des lipoprotéines qui se forment en période de digestion. Elles sont responsables du transport des lipides de l'intestin grêle vers les tissus adipeux périphériques où ils sont retraités. Ils se composent de 98 % de lipides dont 88 % sont des triglycerides.

Les VLDL : *Very Low Density Lipoprotein*, lipoprotéines de très basse densité, sont des lipoprotéines synthétisées en permanence au niveau du foie et de l'intestin. La fonction principale des VLDL est de fournir, dans les périodes interprandiales, aux tissus grands consommateurs d'énergie un apport en acides gras d'origine dite endogène. Le catabolisme de la particule de VLDL conduit à une particule de plus petite taille : l'IDL, ou lipoprotéine de densité intermédiaire.

Les LDL : *Low Density Lipoprotein*, lipoprotéines de basse densité, sont issues de la transformation des VLDL (IDL, plus précisément), et ont pour rôle essentiel de fournir aux tissus périphériques le cholestérol nécessaire à la synthèse et au renouvellement de leurs membranes plasmiques.

Les HDL : *High Density Lipoprotein*, lipoprotéines de haute densité, sont les plus petites et les plus denses des lipoprotéines du plasma. Elles permettent le retour du cholestérol libre des tissus périphériques au foie qui est le site presque exclusif de son catabolisme.

C'est pour cela que les HDL sont qualifiées de « bon cholestérol » par rapport aux LDL qui sont appelées « mauvais cholestérol ».

1.8 Les fonctions biologiques des lipides

Dans l'organisme, les lipides ont différents rôles biologiques, parmi eux :

Rôle de réserve : stockés sous forme de triglycérides dans les tissus adipeux, les lipides constituent ainsi une réserve énergétique mobilisable.

Rôle structural : les phospholipides forment les membranes autour des cellules et des organelles. Le cholestérol permet de réguler la fluidité membranaire.

Rôle de messager : les diacylglycérols et les céramides ont des rôles de médiateurs cellulaires, les prostaglandines sont impliquées dans les phénomènes inflammatoires et les hormones stéroïdiennes comme la testostérone ou les œstrogènes sont des hormones sexuelles.

Rôle de transport : comme pour les lipoprotéines.

Rôles particuliers : il existe différents rôles des vitamines comme celui de la A (appelée aussi rétinol) dans la vision, de la K dans la coagulation. . .), de la vitamine E (ou tocophérol) antioxydante, etc.

Chapitre

2

Dans ce chapitre

Les protéines

Une protéine est une macromolécule biologique composée d'une ou de plusieurs chaînes d'acides aminés, liées entre elles par des liaisons peptidiques.

De par leur présence universelle dans le monde vivant, leur abondance cellulaire, leur extrême diversité, les protéines sont les éléments essentiels de la vie de la cellule. Elles assurent l'immense majorité des fonctions cellulaires.

2.1 Les acides aminés

On appelle *acides aminés* ou *aminoacides* des acides carboxyliques porteurs de fonctions amines. Ce sont les unités structurales de base des protéines. La plupart des acides aminés naturels, et en particulier ceux qui existent dans les protéines (une vingtaine) sont des acides α-aminés.

Acide α-aminé Un *acide α-aminé* ou *α-aminoacide* est une molécule organique possédant un groupement *amine primaire* $-\mathrm{NH}_2$, un groupement *carboxyle* $-\mathrm{COOH}$ et un *radical* $-\mathrm{R}$ attachés à un même atome de carbone dit *carbone α*. Exception faite de la *proline* qui présente un groupement *amine secondaire* [1].

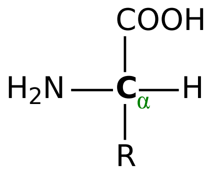


FIGURE 2.1 – Structure chimique d'un α-aminoacide

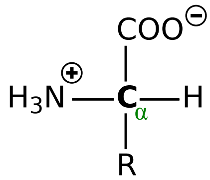


FIGURE 2.2 – La forme ion dipolaire « zwitterion » des α-aminoacides telle qu'on la trouve aux pH physiologiques.

C'est la nature du groupement latéral (on dit aussi chaîne latérale) $-\mathrm{R}$ qui différencie les acides aminés entre eux.

2.1.1 Classification des 20 acides aminés

Les noms de ces 20 aminoacides n'obéissent à aucune nomenclature et évoquent soit leurs sources, soit leurs propriétés physiques ou encore un quelconque caractère analytique. On a l'habitude d'utiliser des abréviations à trois lettres ou à une lettre pour cette série de vingt aminoacides.

État de ionisation L'état d'ionisation des acides aminés étant dépendant des conditions de pH, il a été choisi dans cette présentation de donner les formules présentant l'état d'ionisation qui prévaut à pH physiologique.

Pour retenir ces structures on doit travailler à associer mentalement les noms (qui ont été choisis avant d'en connaître les structures chimiques) et les formules. On commencera par retenir que l'alanine (glycolle) est le plus simple possible. On se souviendra ensuite qu'il existe une série d'acides aminés dérivant de l'alanine par substitution d'un H de celle-ci par :

- un OH : sérine ;
- un SH : cystéine ;
- un COOH : acide asparatique ;
- un radical imidazole : histidine ;
- un radical benzène : phénylalanine ;
- un phénol : tyrosine ;
- un radical indole : tryptophane ;

A. Classification en fonction du caractère polaire ou des propriétés chimiques du radical R

Le moyen le plus courant et peut être le plus utile de classer les 20 acides aminés est de considérer les polarités de leurs chaînes latérales (**figure 2.3**).

1. La proline possède une fonction amine secondaire et non pas une fonction imine. L'erreur est présente dans certains ouvrages francophones de biochimie.

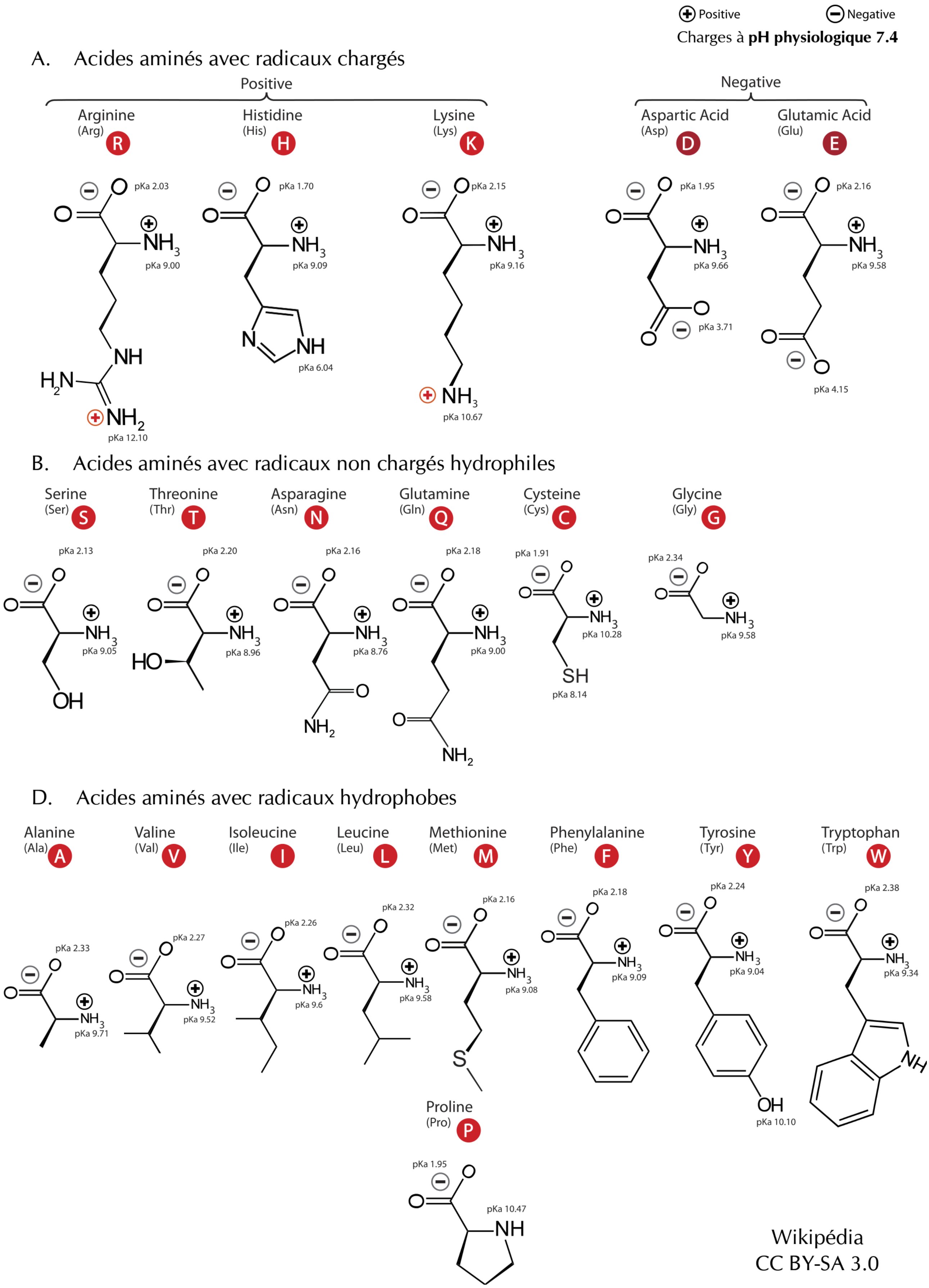


FIGURE 2.3 – Liste des 20 acides aminés.

Acide aminés indispensables Les animaux supérieurs sont incapables de synthétiser la totalité de ces aminoacides. Chez l'homme, 8 d'entre eux doivent être apportés par la ration alimentaire, ils sont qualifiés d'indispensables :

- l'isoleucine ;
- la leucine ;
- la lysine ;
- la méthionine ;
- la phénylalanine ;
- la thréonine ;
- la tryptophane ;
- la valine.

A ceux-ci, on peut ajouter des aminoacides que l'organisme synthétise à une vitesse trop lente : l'*arginine* et l'*histidine*, qui sont indispensables pour le nouveau-né ou l'enfant.

2.1.2 Généralités sur l'activité optique

A. Analogie avec une corde vibrante

Imaginons une corde tendue horizontalement. Si nous en agitons une extrémité de haut en bas dans un plan vertical, la corde se déforme et l'ébranlement se propage tout en restant dans le plan vertical. Nous avons fabriqué une onde polarisée rectilignement (ou linéairement). Ce plan vertical s'appelle le plan de polarisation.

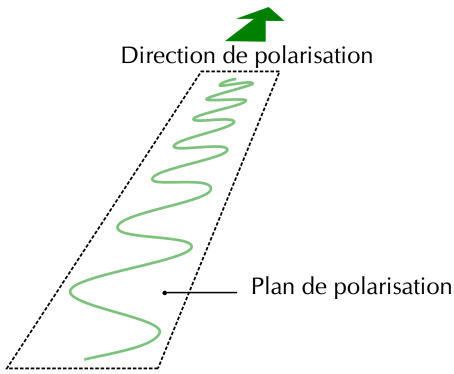


FIGURE 2.4 – Onde linéairement polarisée dans un plan vertical.

B. Lumière naturelle

La lumière naturelle est une onde électromagnétique qui se propage linéairement, mais elle n'est que rarement simple. Comme toute onde elle est définie, entre autres, par sa fréquence ou sa longueur d'onde et son plan de vibration. La lumière naturelle est un mélange d'ondes de caractéristiques différentes. Si la longueur d'onde est unique, la lumière est *monochromatique*, d'une seule couleur et si le plan de vibration est unique et constant elle est *polarisée*.

Le carbonate de calcium ou calcite ($CaCO_3$) est un cristal possédant une propriété de double réfraction (biréfringence) par laquelle un rayon lumineux pénétrant dans le cristal est divisé en deux. Les deux rayons émergeant sont dits polarisés dans un plan car ils vibrent chacun dans des plans perpendiculaires.

C. Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire, également appelé activité optique, est la propriété qu'ont certains milieux de faire dévier le plan de polarisation d'un faisceau de lumière monochromatique polarisée le traversant.

L'angle de déviation R est fonction de :

- la longueur d'onde de la lumière monochromatique utilisée, généralement la raie D (jaune) du sodium à 589,3 nm ;
- la température, généralement 20°C ;
- la substance en solution et sa concentration.

Loi de BIOT

$$[\alpha]_D^{20^\circ C} = \frac{100R}{l \cdot c}$$

Avec :

$[\alpha]$: pouvoir rotatoire spécifique ;

l : largeur de la cuve (trajet optique) en dm ;

c : concentration de la solution en $g/100mL$;

R : angle de rotation observé, mesuré en degrés. Par convention, il est mesuré positivement dans le sens des aiguilles d'une montre.

Les composés induisant une déviation du plan vers la **droite** ($\alpha > 0$) quand on fait face à la lumière sont qualifiés de **dextrogyres** et sont notés $(+)$. Ceux induisant une déviation vers la **gauche** ($\alpha < 0$) quand on fait face à la lumière sont qualifiés de **lévogyres** et sont notés (–).

Le pouvoir rotatoire d'une molécule chirale est une propriété physique caractéristique de celle-ci au même titre que son point de fusion, son point d'ébullition et sa densité.

D. Stéréoisomérie et isomérie optique

Les études effectuées au cours du XIXe siècle ont montré que le pouvoir rotatoire est dû à une dissymétrie des molécules de sorte qu'elles ne soient pas superposables avec leur image dans un miroir. Introduisons tout d'abord quelques définitions :

Carbone asymétrique : en chimie organique, un atome de carbone asymétrique est un carbone tétraédrique (hybridé sp^3) qui possède quatre substituants de nature différente.

Stéréoisomérie : la stéréoisomérie concerne l'isomérie qui résulte uniquement de la position relative des atomes d'une molécule. On parle alors de stéréoisomères.

Isomérie optique : il s'agit d'un type de stéréoisomérie qui se produit autour d'un carbone asymétrique.

Énantiomère : deux isomères optiques sont des énantiomères ou énantiomorphes s'ils sont image l'un de l'autre dans un miroir et qu'ils ne sont pas superposables comme les mains droite et gauche. Ils ont les mêmes propriétés physiques et un pouvoir rotatoire opposé.

Diastéréoisomère : deux isomères optiques d'une molécule possédant plusieurs atomes de carbone asymétriques sont des diastéréoisomères s'ils ne sont ni superposables, ni images l'un de l'autre dans un miroir.

Un atome de carbone tétraédrique portant quatre substituants différents a, b, c et d, donne lieu à deux *énantiomères*. En effet, ces deux composés ne peuvent se superposer, que si deux au moins des substituants sont identiques. C'est pourquoi il est habituellement appelé « carbone asymétrique ». C'est lui qui confère à la molécule son pouvoir rotatoire.

Les deux énantiomères ont les mêmes propriétés physiques et chimiques et ne diffèrent que par leurs pouvoirs rotatoires qui sont opposés. Si une molécule possède un pouvoir rotatoire dextrogyre, son énantiomère possèdera un pouvoir rotatoire de même valeur, mais de signe lévogyre.

Lorsque deux énantiomères sont présents dans une solution, le pouvoir rotatoire de celle-ci est la somme des pouvoirs rotatoires des espèces présentes. Si les deux énantiomères sont présents en quantité égale, la rotation de l'un des composés sera annulée par l'autre et aucune activité optique ne sera observée. De tels mélanges sont appelés mélanges **racémiques**. La structure cristalline du mélange racémique lui confère des propriétés physiques différentes.

E. Projection de FISCHER

En chimie, particulièrement en chimie organique et en biochimie (notamment pour l'étude des sucres), la projection de Fischer est une représentation plane d'une molécule organique tridimensionnelle, décrivant de manière exacte sa stéréochimie. Toutes les liaisons chimiques sont représentées comme des lignes horizontales ou verticales. La chaîne carbonée principale se situe sur la ligne verticale. L'orientation de la chaîne carbonée est telle que le carbone le plus oxydé est placé dans la moitié supérieure. Dans une projection de Fischer, les liaisons représentées sur la ligne horizontale sortent dans la réalité vers l'avant (hors de la feuille, vers vous). C'est pour cette raison qu'une projection de Fischer ne peut être tournée dans le plan de la page : alors l'orientation des liaisons les unes relativement aux autres peut changer, convertissant ainsi la molécule en son énantiomère **[32]**.

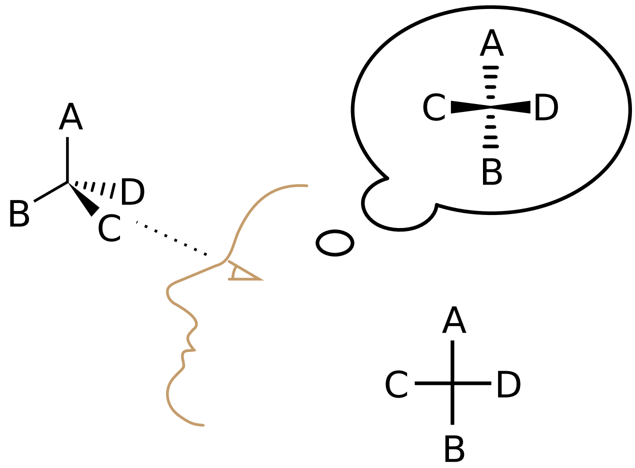
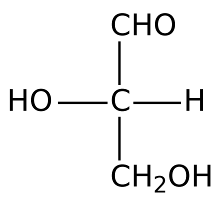


FIGURE 2.5 – Principe de la projection de Fischer.
Wikipédia, Creative Commons CC BY-SA 3.0

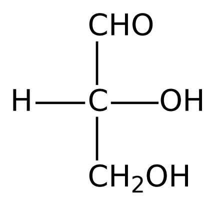
Les projections de Fischer sont le plus souvent utilisées en biochimie pour représenter les monosaccharides, mais elles peuvent aussi être utilisées pour les acides aminés ou pour d'autres molécules organiques.

Convention de FISCHER

En étudiant le glycéraldéhyde, FISCHER introduit la convention de designer les deux isomères optiques (+) et (-) de la glycéraldéhyde respectivement par **D-glycéraldéhyde** et **L-glycéraldéhyde**. Il fit l'hypothèse que les configurations de ces molécules étaient celles représentées sur la figure ci-dessous. Il n'avait que 50 % de chance d'avoir raison, ce n'est que bien plus tard, que de nouvelles techniques ont permis de démontrer que le choix arbitraire de FISCHER était correcte pour cette molécule.



L-glycéraldéhyde



D-glycéraldéhyde.

Configurations désignant les énantiomères de la glycéraldéhyde selon la convention de FISCHER.

2.1.3 Propriétés physiques

A. Pouvoir rotatoire

Les atomes de C_α de tous les acides aminés, à l'exception de la glycine, sont des carbones asymétriques, ce qui confère à ces acides aminés un pouvoir rotatoire. La glycine, qui a deux atomes d'hydrogène sur son C_α, est superposable à son image en un miroir et n'est donc pas optiquement active.

Représentation selon FISCHER

Pour représenter les différents stéréoisomères des α-aminoacides, on utilisera la méthode de FISCHER. On rattachera respectivement l'arrangement des groupes amino, carboxyle, R et H autour de l'atome C_α à celui des groupes hydroxyle, aldéhyde, $\mathrm{CH_2OH}$ et H de la glycéraldéhyde. Un α-aminoacide qui a la même configuration absolue que la L-glycéraldéhyde sera dit L-α-aminoacide ou appartenant à la **série L**. De la même manière, un α-aminoacide qui a la même configuration absolue que la D-glycéraldéhyde sera dit D-α-aminoacide ou appartenant à la **série D**.



L-α-aminoacide. **D-α-aminoacide.**

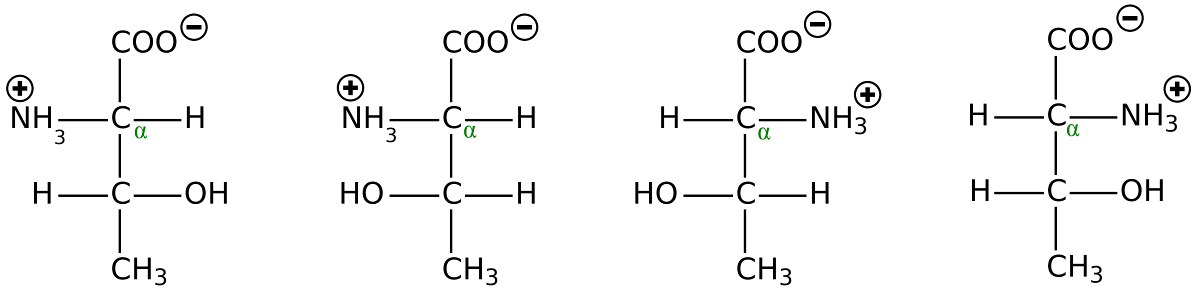
Configurations des L-α-aminoacide et des D-α-aminoacide selon la convention de FISCHER.

À l'exception de la glycine qui ne contient pas de carbone asymétrique tous les acides aminés des protéines appartiennent à la **série L**.

La façon de savoir si on a affaire à une forme L ou D dans la structure d'un acide aminé est de le regarder le long de l'axe du lien qui lie son hydrogène au carbone α. Dans la forme L, l'agencement des autres groupements sur le carbone central sera le suivant dans le sens des aiguilles d'une montre : **CO**OH, **R**, **N**$\mathrm{H_3}$ ou **CORN**.

Remarque : La série D ou L de Fischer ne préjuge en rien du caractère dextrogyre (+) ou lévogyre (-) de la molécule : un aminoacide de la série L peut être lévogyre ou dextrogyre.

Notons que la thréonine et l'isoleucine ont deux carbones asymétriques. Leur énantiomère (L) existera sous deux formes. On affecte le préfixe « allo » à celui que l'on ne trouve pas dans les protéines. La L-thréonine et la D-allo-thréonine sont des **diastéréoisomères**.



L-thréonine **L-allo-thréonine** **D-thréonine** **D-allo-thréonine**

Configurations des stéréoisomères de la thréonine.

B. Spectre d'absorbtion

La mesure de la quantité de lumière absorbée par une molécule s'appelle la **spectrophotométrie**.

Les aminoacides n'absorbent pas la lumière visible (400 à 750 nm), leurs solutions sont incolores. Les trois acides aminés aromatiques (Try, Phe et Tyr) absorbent dans l'ultraviolet au voisinage de 280 nm.

Comme toutes les protéines possèdent des résidus aminoacyles aromatiques, cette propriété d'absorption à 280 nm sert à doser ces protéines lorsqu'elles sont en solution dans l'eau et qu'il n'existe pas d'autres molécules absorbant la lumière UV à cette longueur d'onde (acides nucléiques par exemple).

C. Solubilité

En général, les acides aminés sont solubles dans l'eau, cependant, la solubilité varie en fonction de la nature du radical –R. La solubilité dans les solvants organiques est en général faible, mais là aussi elle varie en fonction de –R.

Ces différences de solubilité permettent la séparation et l'identification des acides aminés.

2.1.4 Propriétés chimiques

A. Propriétés acido-basiques

Lorsque l'acide aminé est libre, il a au moins deux groupements fonctionnels sur le même carbone α et pour certains un troisième sur la chaîne latérale. L'un des deux groupements est un acide (carboxylique) et l'autre est une base (amine).

Nous allons étudier les équilibres des diverses formes qu'on peut trouver en solution aqueuse pour un aminoacide et les courbes de titrage.

a. Aminoacide à chaîne latérale ne comportant pas de groupe ionisable

Les pK des groupes α-COOH et α-aminé sont très différents : de l'ordre de 2 pour la fonction carboxylique et de l'ordre de 9 pour la fonction amine. De ce fait, on peut étudier chacun des équilibres séparément. Les équilibres successifs de dissociation sont caractérisés par les constantes individuelles de dissociation de chaque groupe.

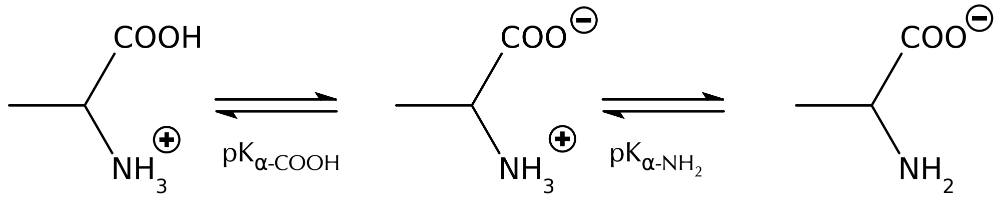


FIGURE 2.6 – Dissociation des fonctions α-COOH et α-aminé d'un acide aminé.

La forme ionique intermédiaire est un *zwitterion* ou ion dipolaire.

Les acides aminés sont une espèce *amphotère* puisqu'ils ont les propriétés d'une base pour la première réaction de dissociation et les propriétés d'un acide pour la deuxième réaction de dissociation.

Le pH où existe le zwitterion comme forme majoritaire et où la concentration de AA^+ est égale à la concentration de AA^- est par définition le **point isoélectrique** ou point isoionique pH_i de l'acide aminé.

Déterminons la valeur du pH_i :

$$\begin{cases} K_1 &= \dfrac{[A^0][H^+]}{[A^+]} \\ K_2 &= \dfrac{[A^-][H^+]}{[A^0]} \\ [A^-] &= [A^+] \end{cases}$$

D'ou $[H^+]^2 = K_1K_2$ ou encore :

$$pH_i = \frac{pK_1 + pK_2}{2}$$

- L'effet tampon des acides aminés est maximal quand le pH ambiant est près des deux pK_a de la molécule.
- Pour un $pH < pH_i$, l'aminoacide a une charge totale nette moyenne positive.

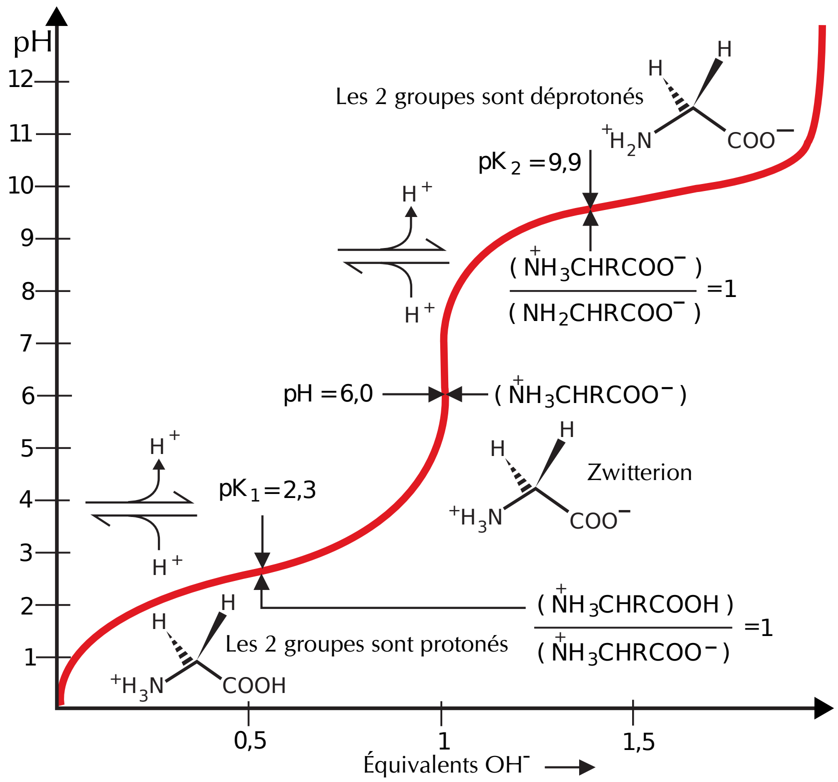


FIGURE 2.7 – Titration d'un aminoacide à chaîne latérale ne comportant pas de groupe ionisable.

- Pour un $pH > pH_i$, l'aminoacide a une charge totale nette moyenne négative.
- À l'exception de l'histidine, aucun aminoacide ne possède de zone tampon dans la zone du pH physiologique (6-8).

b. Aminoacides à chaîne latérale comportant une fonction acide

Ces aminoacides portent une fonction carboxylique sur leur chaîne latérale. Le phénomène d'ionisation et les équilibres successifs sont représentés sur la figure 2.8. Le pK du COOH de la chaîne latérale est plus élevé que le pK du α-COOH et plus faible que le pK de l'α-amine.

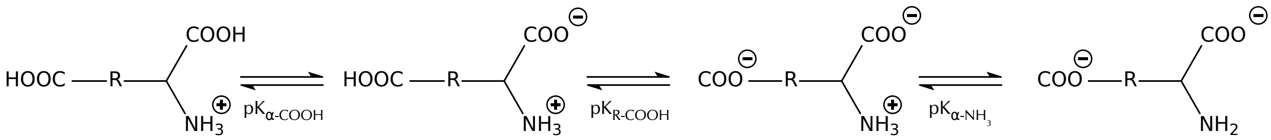


FIGURE 2.8 – Dissociation des fonctions d'un acide aminé à chaîne latérale comportant une fonction acide.

On a donc :

$$pH_i = \frac{pK_1 + pK_2}{2}$$

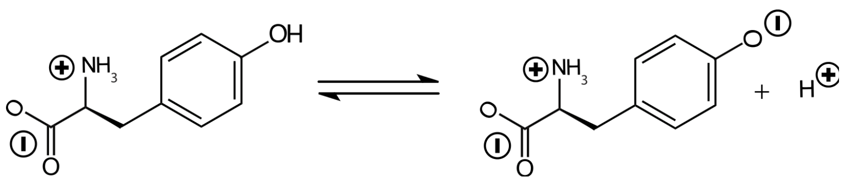


FIGURE 2.9 – Dissociation de la fonction hydroxyle de tyrosine.

Le groupement thiol de la cystéine et le groupement phénol de la tyrosine sont faiblement acides.

Pour la tyrosine, le deuxième équilibre ne concerne pas la deuxième fonction acide mais la fonction α-aminée, le pH_i sera la moyenne des pK α-COOH et α-amine.

c. Aminoacides à chaîne latérale comportant une fonction base

Ces aminoacides portent une amine sur leur chaîne latérale. Le phénomène d'ionisation et les équilibres successifs sont représentés sur la figure 2.10.

À l'exception de l'histidine, le pK de la fonction α-amine est plus faible que celui de la fonction R-amine.

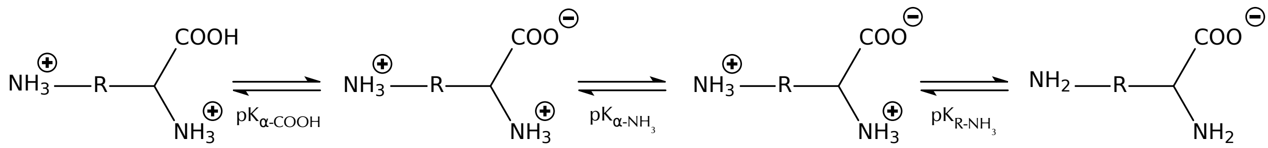


FIGURE 2.10 – Dissociation des fonctions d'un acide aminé à chaîne latérale comportant une fonction acide.

On a donc :

$$pH_i = \frac{pK_1 + pK_2}{2}$$

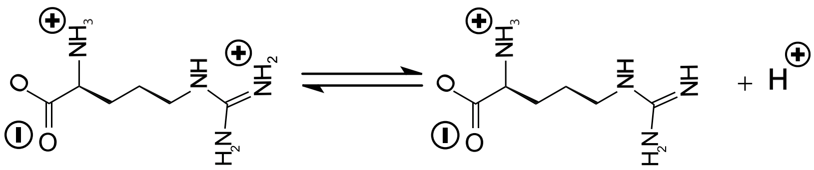


FIGURE 2.11 – Dissociation de la fonction guanidyle de l'arginine.

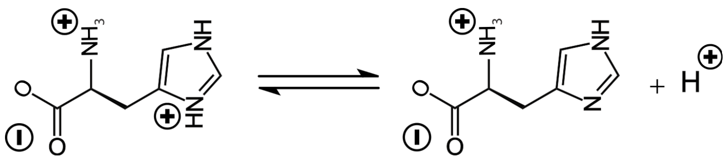


FIGURE 2.12 – Dissociation de la fonction imidazole de l'histidine.

B. Propriétés de la fonction α-carboxyle

Formation de sels : la formation de sels se fait généralement avec la soude ($NaOH$) ou la potasse (KOH).

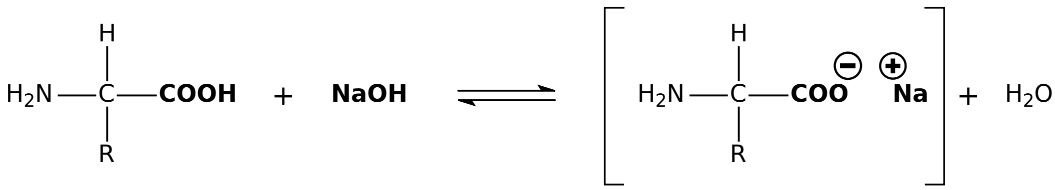


FIGURE 2.13 – Réaction d'un acide gras avec une base forte.

Estérification : l'estérification se fait grâce à un alcool. On utilise souvent l'alcool n-butylique (Butan-1-ol) et on obtient des ester n-butyliques. Cette propriété est utilisée lors de l'analyse par chromatographie en phase gazeuse car ces esters sont volatils. Selon l'ester obtenu, on pourra connaître l'acide aminé présent dans le mélange.

Décarboxylation : cette réaction est présente dans les organismes vivants pour produire à partir des aminoacides des *amines* qui peuvent être des précurseurs d'autres molécules, et ce, par des *décarboxylases*. Elle peut se faire chimiquement en utilisant l'hydroxyde de baryum $Ba(OH)_2$

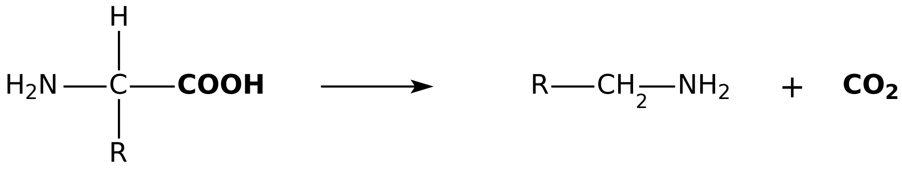


FIGURE 2.14 – Réaction de décarboxylation.

Cette méthode permet le dosage de certains acides aminés par mesure du CO_2 dégagé. Les décarboxylases bactériennes attaquent les acides aminés basiques et libèrent divers substances, notamment les cadavérines de la putréfaction.

Quelques produits de décarboxylation d'aminoacides :

Éthanolamine : produit de la décarboxylation de la sérine, l'éthanolamine est le précurseur de la choline des phospholipides.

Histamine : produit de la décarboxylation de l'histidine, l'histamine est un vasodilatateur intervenant dans les réactions d'allergie ou d'inflammation.

Tyramine : produit de la décarboxylation de la tyrosine, la tyramine est un vasoconstricteur et hypertenseur.

Formation d'un alcool aminé : elle se fait par réduction de la fonction carboxylique en utilisant le borohydrure de sodium $NaBH_4$ ou le borohydrure de lithium $LiBH_4$, elle aboutit à la formation d'un alcool α-aminé.

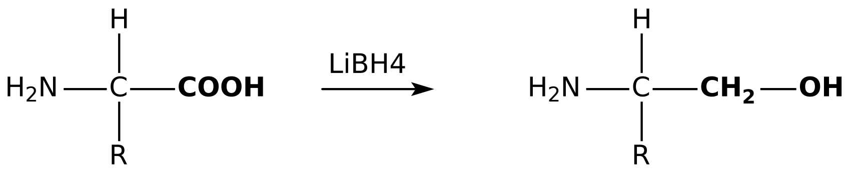


FIGURE 2.15 – Réaction de réduction.

Formation d'amide : cette formation est à la base de la liaison peptidique.

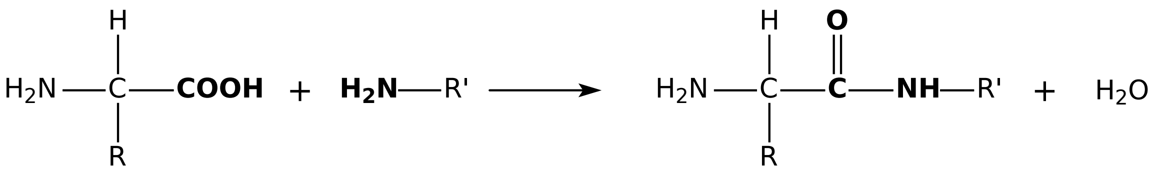


FIGURE 2.16 – Réaction de formation d'un amide.

C. Propriétés de la fonction α-amine

N-acylation : une acylation est une réaction au cours de laquelle un groupement acyle est ajouté à une molécule, ce groupement étant transféré depuis un agent acylant. Les *halogénures d'acyle* et les *anhydrides* sont très utilisés comme agents acylants.

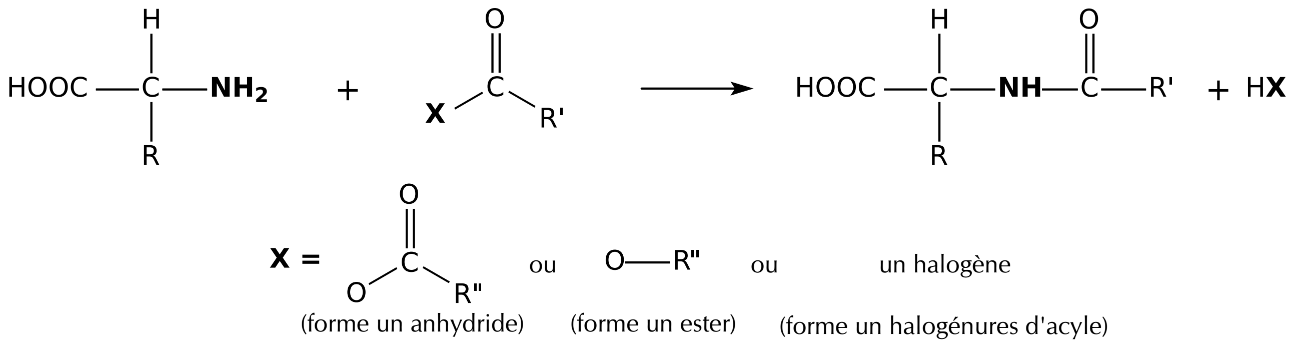


FIGURE 2.17 – Réaction de N-acylation.

Cette réaction peut aussi se produire si le carbonyle est remplacé par un sulfonyl. La réaction avec le *chlorure de dansyle* (1-diméthyl-amino-naphtalène-5-sulfonyle) donne un composé plus stable et fluorescent permettant une grande sensibilité dans la détection.

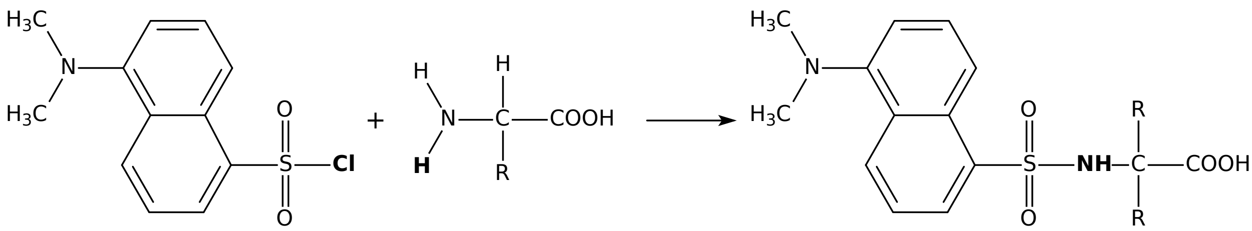


FIGURE 2.18 – Réaction avec le chlorure de dansyl.

Arylation : l'arylation est réaction de substitution d'un H de la fonction NH_2 par un groupement aryle (aromatique). Cette réaction à l'aide d'un dérivé aromatique, le dinitro-fluoro-benzène (DNFB), a permis à Frederik SANGER d'établir la première structure primaire d'une protéine : l'insuline.

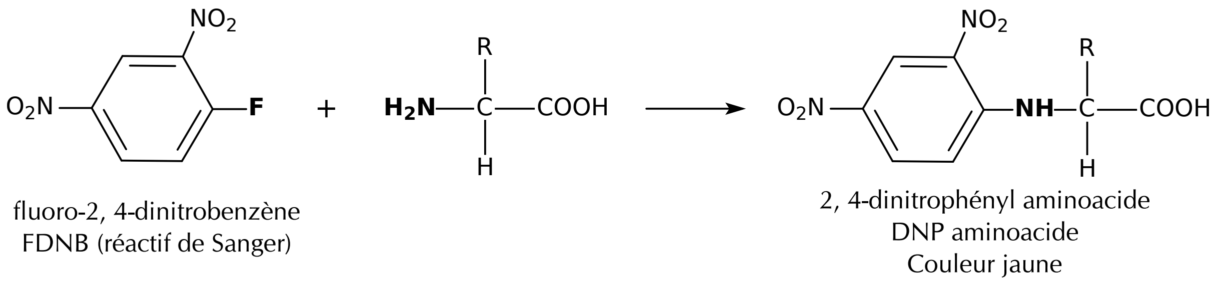


FIGURE 2.19 – Réaction du chlorure du dinitro-fluoro-benzène avec un aminoacide.

Carbamylation : la réaction dite de *carbamylation* avec le *phénylisothiocyanate* (PTC), à un pH basique de 9, donne des dérivés qui absorbent dans l'ultraviolet et facilement séparable par chromatographie.

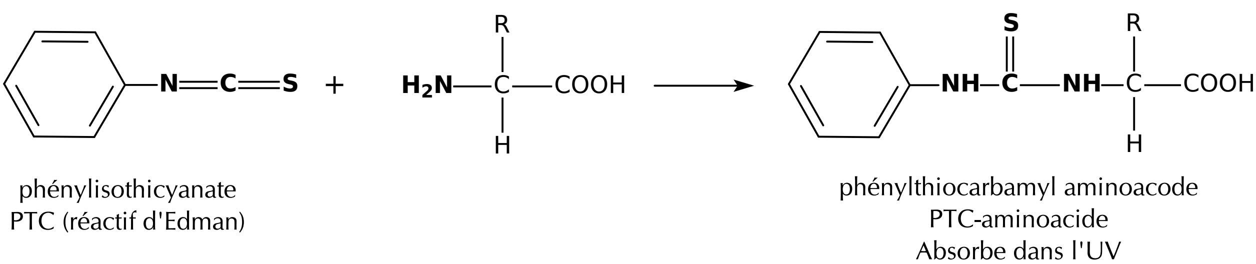


FIGURE 2.20 – Réaction du phénylisothicyanate avec un aminoacide.

Désamination : le départ de la fonction amine s'appelle désamination. Il peut se faire in vitro,ou in vivo. In vitro, on emploie par exemple l'acide nitreux NO_2H.

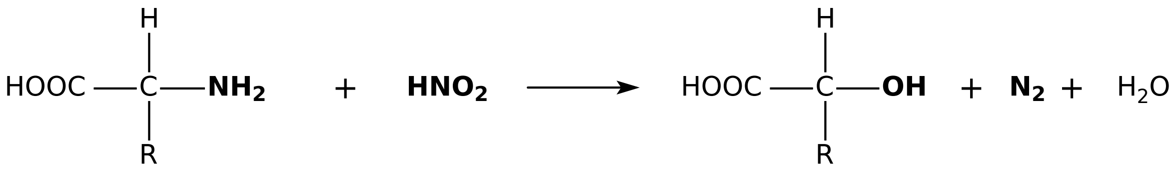


FIGURE 2.21 – Réaction de désamination.

Réactions avec les aldéhydes : les fonctions α-aminés des aminoacides réagissent réversiblement avec les aldéhydes pour donner des **bases de SCHIFF** qui sont relativement labiles. Ces bases de Schiff apparaissent très souvent comme intermédiaires dans des réactions enzymatiques impliquant les aminoacides comme substrat. La proline qui contient une fonction amine secondaire ne réagit pas avec les aldéhydes.

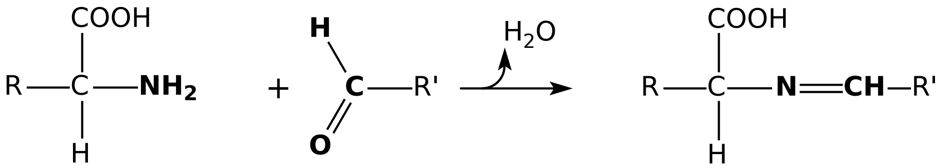


FIGURE 2.22 – Réaction d'un aldéhyde avec un aminoacide.

D. Propriétés dues à la proximité des fonctions carboxyliques et aminées

Réaction à la ninhydrine : la réaction avec la ninhydrine est l'une des plus connue et utilisée, elle aboutit à un produit *violet* pour les amines primaires et à un autre dérivé de couleur *jaune* pour les amines secondaires. L'acide aminé est complètement dégradé par une réaction de désamination et de décarboxylation.

Il est à noter que la coloration n'est pas spécifique des acides aminés. Elle se produit avec d'autres composés ayant des groupements aminos libres : glucosamine, peptides et protéines.

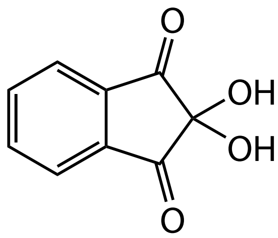


FIGURE 2.23 – Structure de la ninhydrine.

La ninhydrine permet de révéler des empreintes digitales sur des surfaces poreuses (papiers et cartons) grâce à la réaction avec les acides aminés contenus dans l'empreinte.

E. Propriétés dues à la chaîne latérale

Groupements carboxyliques et amines : les groupements carboxyliques latéraux de l'acide aspartique et l'acide glutamique et les groupements amines de la lysine ont la même réactivité chimique que celle des groupements portés par le carbone central.

Groupement guanidyle : le groupement guanidyle de l'arginine a une faible réactivité car il est stablisé par résonance (ou mésomérie, voir cours de chimie).

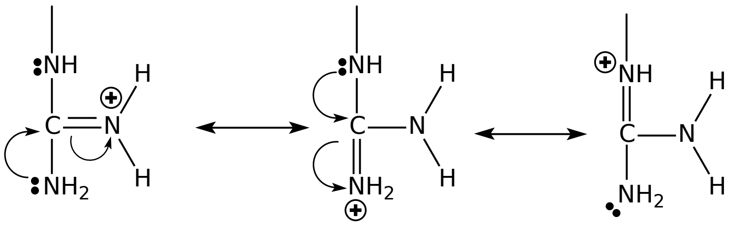


FIGURE 2.24 – Formes limites de la fonction guanidinium.

Groupement imidazole : le groupement imidazole de l'histidine permet à certains résidus d'histidine présents dans les sites actifs d'enzymes d'intervenir dans des réactions de transfert de proton.

Groupement phénol : le groupement phénol de la tyrosine peut être halogéné, donnant respectivement la *monoiodotyrosine* et la *diiodotyrosine* qui sont des précurseurs d'hormones thyroidiennes.

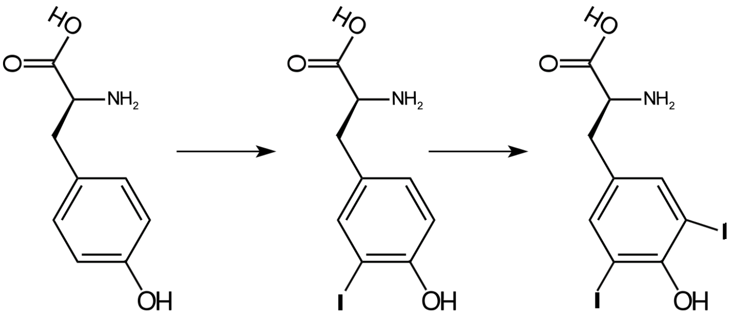


FIGURE 2.25 – Iodation de la tyrosine.

Groupement hydroxyle : les fonctions alcool de la sérine et de la thréonine, ainsi que la fonction phénol de la tyrosine, peuvent être estérifiées, en particulier par l'acide phosphorique.

Groupement thiol : ce groupement de la cystéine est très réactif, son oxydation en présence de O_2 permet la formation des ponts disulfures que l'on trouve dans les protéines (pont intra-chaîne ou entre chaînes polypeptidiques). Cette réaction est catalysée par la présence de métaux.

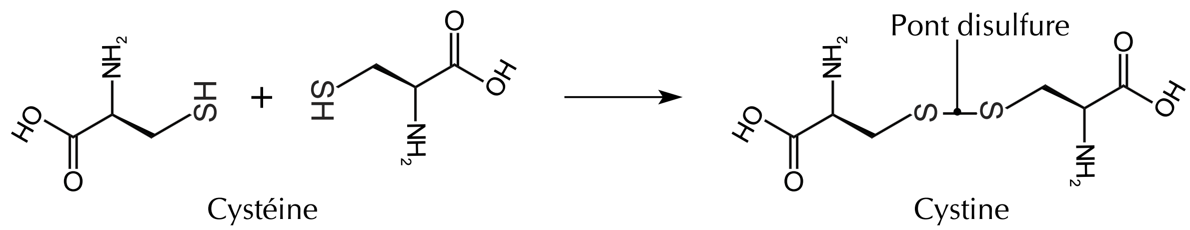


FIGURE 2.26 – Formation d'un pont disulfure.

Les ponts disulfures peuvent être rompus par des réducteurs, les plus utilisés sont :
- le β-mercaptoéthanol ;
- le DTT (dithiothréitol) ;
- l'acide performique (irréversible).

2.2 Les peptides

Les peptides sont des composés formés par union d'un certain nombre d'acides aminés de façon séquentielle, la fonction carboxylique de l'un ayant réagi avec la fonction amine du suivant. Les acides aminés présents dans le peptide ont ainsi perdu le H de leur NH_2 et le OH de leur COOH : on dit qu'il s'agit de « restes » ou « résidus » d'acides aminés.

La liaison –CO–NH– entre les résidus successifs d'acides aminés, est une variété particulière de liaison *amide*. On l'appelle *liaison peptidique*. L'acide aminé qui a gardé son -NH_2 intact à une extrémité est appelé acide aminé *N-terminal*. Celui qui a gardé son -COOH à l'autre bout est appelé *C-terminal*.

Pour décrire la succession des résidus d'acides aminés dans le peptide, on parle d'enchaînement ou chaîne d'acides aminés du peptide, ou encore de séquence de résidus d'acide. Cette séquence n'est pas livrée au hasard : un peptide donné, ayant un rôle biologique précis a toujours la même séquence. C'est ce qui définit sa réactivité biologique.

Quand il y a deux résidus d'acides aminés, il s'agit d'un *dipeptide*, quand il y a en 3, c'est un *tripeptide*. On parle aussi d'*oligopeptide* pour un nombre de résidus allant de 2 à 9 et de *polypeptide* pour un nombre supérieur. Au delà de 100 résidus, ce n'est plus un polypeptide mais une *protéine*. La limite entre les deux groupes est fixée arbitrairement à une masse moléculaire moyenne de 10 000. Comme la masse moléculaire moyenne d'un résidu d'acide aminé est de 100, un peptide d'une masse moléculaire de 10 000 contient à peu près 100 résidus **[33]**.

2.2.1 Conventions, nomenclature et structure

Pour nommer un peptide, on commence toujours par indiquer le résidu d'acide aminé N-terminal et on finit par l'acide aminé C-terminal. On utilise le suffixe « yl » pour désigner tous les résidus d'acides aminés sauf le C-terminal auquel on donne son nom habituel. En termes de chimie organique, on considère que chaque résidu substitue la fonction amine du résidu qui le suit et que l'ensemble substitue le résidu C-terminal.

Pour écrire la formule d'un peptide, on met toujours à gauche l'acide aminé N-terminal et à droite celui qui est C-terminal. Si on écrit la formule développée, on peut dessiner une sorte de dent de scie qui tient approximativement compte de la disposition des carbones et azotes selon les angles de valence (**figure 2.27**).

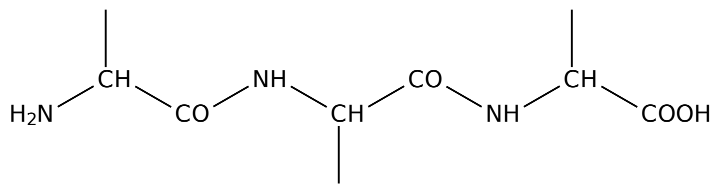


FIGURE 2.27 – Épine dorsale peptidique.
Remarquer les valences libres.

Il suffit ensuite de placer sur les CH qui conservent une valence libre les chaînes latérales des résidus d'acides aminés dans l'ordre de leur séquence (**figure 2.28**) **[33]**.

2.2.2 Origine des peptides

La plupart des peptides sont formés comme les protéines par la synthèse protéique. Parfois, ils proviennent d'une protéine précurseur de grande taille qui est ensuite partiellement hydrolysée. Certains

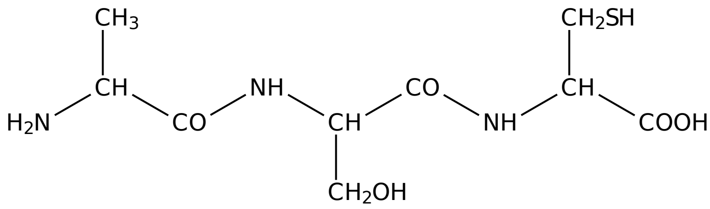


FIGURE 2.28 – Peptide alanyl-séryl-cystéine.

peptides de petites taille se forment par réaction directe entre acides aminés grâce à des enzymes spéciales. Enfin, certains peptides se forment de façon transitoire pendant la digestion des protéines par des enzymes appelées *protéases* **[34]**.

2.2.3 Propriétés des peptides

A. Propriétés biologiques

Certains peptides ont des propriétés protectrices, des propriétés hormonales, parfois, des activités antibiotiques **[34]**.

Glutathion Le glutathion est le γ-glutamyl-cystéinyl-glycine. C'est un *tripeptide irrégulier* puisque le résidu glutamyl est fixé par le carboxyle γ et non α. Il est nécessaire au maintien en bon état de la membrane des globules rouges au cours du phénomène de transport respiratoire de l'oxygène.

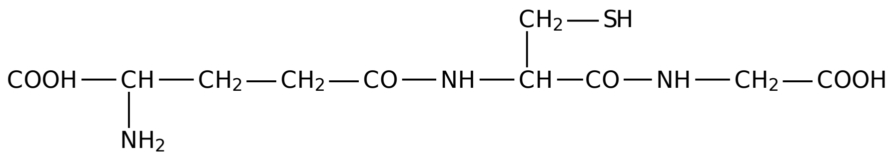


FIGURE 2.29 – Structure chimique du glutathion.

B. Propriétés physiques

Solubilité : les peptides sont d'autant plus solubles dans l'eau qu'il sont plus petits et contiennent d'avantage d'acides aminés hydrophiles.

Absorption de la lumière : les peptides absorbent la lumière dans l'ultraviolet à longueur d'onde de 280 nm s'ils contiennent un acide aminé aromatique.

C. Propriétés chimiques

Propriétés de la liaison peptidique : les électrons π du groupe carbonyle et le doublet électronique libre de l'azote sont très proches. La résonance (mésomérie) de ces électrons donne au groupe peptidique des structures intermédiaires entre deux formes mésomères (voir la figure 2.31).

Cette liaison est intermédiaire entre une simple et une double liaison qui implique les propriétés suivantes :

- la structure du groupe peptidique est rigide : les 6 atomes sont coplanaires.
- les 2 carbones C_α se placent de part et d'autre du pont C–N dans la configuration **trans** la plus favorable thermodynamiquement.
- la liaison C–N ne subit pas de libre rotation.
- la fonction –NH– ne s'ionise pas.
- les atomes d'oxygène et d'hydrogène d'une liaison peptidique sont d'excellents accepteurs et donneurs de liaisons hydrogène.

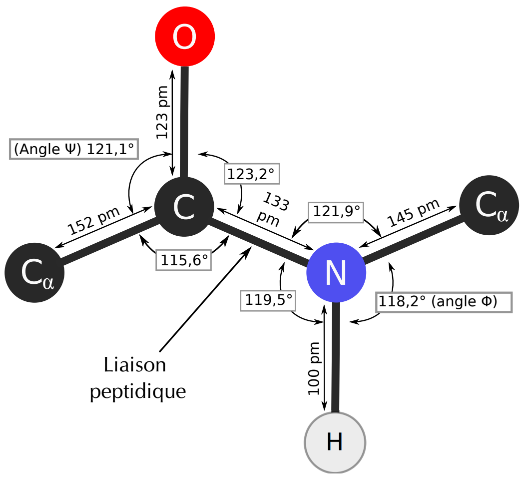


FIGURE 2.30 – Longueurs et angles de la liaison peptidique.
Wikipédia, CC BY-SA 3.0

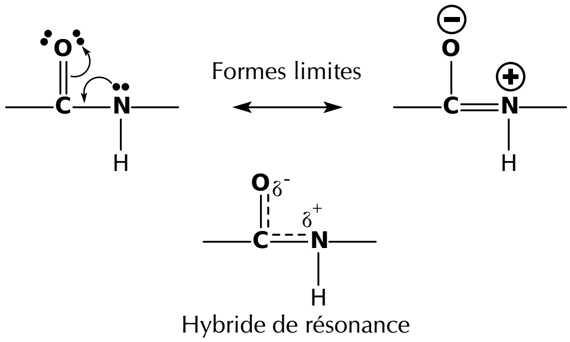


FIGURE 2.31 – Formes limites de la liaison peptidique.

Propriétés acido-basiques : le comportement acido-basique du peptide est dû aux fonctions $-NH_2$ et $-COOH$ terminales et aux fonctions ionisables apportées par la chaîne latérale.

Propriétés des chaînes latérales des résidus d'acides aminés :

Phosphorylation : si un peptide contient un résidu de sérine, de thréonine ou de tyrosine, la fonction alcool ou phénol de ces résidus peut être estérifiée par un phosphate ou même un sulfate.

Formation de ponts disulfures : si le peptide contient un résidu de cystéine, il peut réagir avec lui même ou un autre peptide contenant de la cystéine par oxydation, c'est-à-dire formation d'un pont disulfure.

Réaction xanthoprotéique : si le peptide contient un résidu de tyrosine, il peut réagir avec l'acide nitrique en donnant une coloration jaune.

Réaction à la ninhydrine : on se souvient de la réaction à la ninhydrine caractéristique des acides aminés. Les plus petits peptides, dipeptide ou tripeptide donnent la même réaction (coloration violette). Par contre, quand ils contiennent plus de quatre résidus d'acides aminés, les peptides ne réagissent plus avec la ninhydrine.

Réaction de biuret : cette réaction, à l'inverse de la réaction précédente, n'a lieu qu'avec les peptides comportant plus de 4 résidus (et donc au moins deux liaisons peptidiques). Les peptides forment des complexes de coordination avec l'ion Cu^{2+}. Chaque ion Cu^{2+} se lie à la chaîne polypeptidique par 4 covalences de coordination fournies par des doublets libres des atomes d'azote. Ce complexe est de couleur rose. Comme on opère en présence d'un excès de solution cuivrique ($CuSO_4$) qui est de couleur bleu, celle-ci se superpose à la couleur rose de sorte que la résultante est une couleur violacée.

2.3 Les protéines

Les protéines sont des macromolécules biologiques constituées par des séquences d'acides aminés réunis par des liaisons peptidiques et pourvues d'une structure tridimensionnelle complexe.

Les fonctions biologiques des protéines sont particulièrement importantes : certaines d'entre elles, les enzymes servent de catalyseurs pour les réactions chimiques du métabolisme, d'autres sont des transporteurs de molécules. D'autres encore ont un rôle de soutien, de structure, de reconnaissance, etc **[35]**.

Cette multiplicité de fonctions des protéines est rendu possible par leur très grande variété structurale. La structure des protéines étant assez complexe, on distingue – pour en faciliter l'étude – plusieurs degrés d'organisation structurale, chacun dépendant du précédent.

2.3.1 Structure primaire des protéines

La structure primaire, encore appelée séquence protéique, équivaut à l'ordre d'enchaînement des acides aminés les uns aux autres.

A. Détermination de la composition d'une protéine en acides aminés

Il est parfois utile d'analyser les proportions des divers types d'acides aminés présents dans une protéine, car elles peuvent refléter son comportement biologique. Cela ce fait en trois temps :

1. hydrolyser une quantité donnée de la protéine ;
2. séparer et identifier les acides aminés résultant de l'hydrolyse ;
3. analyser la quantité de chaque acide aminé.

a. Hydrolyse des liaisons peptidiques

La liaison peptidique est très stable, son hydrolyse spontanée est quasiment nulle ; mais elle peut être hydrolysée par voie chimique ou enzymatique.

Hydrolyse acide : l'action de l'acide chlorhydrique (HCl) 6M sur un peptide, à ébullition pendant 10 à 24 heures, aboutit à un hydrolysat contenant les aminoacides avec toutefois les restrictions suivantes :
- l'aminoacide acide tryptophane est entièrement détruit ;
- les amides (Asn, Gln) sont hydrolysées en ammoniac et acides correspondants (Asp, Glu) ;
- certains aminoacides (Tyr, Ser, Thr) peuvent être partiellement détruits (un temps d'hydrolyse plus faible permet de résoudre le problème).

Hydrolyse alcaline : elle se fait en utilisant de l'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4 mol/L à chaud (110°C) pendant 4 à 8h environ. L'hydrolyse totale alcaline détruit la sérine, la thréonine, la cystéine.

Hydrolyse enzymatique : l'hydrolyse des liaisons peptidiques peut être réalisée par des enzymes : les peptidases (ou protéases ou enzymes protéolytiques). Cette hydrolyse est lente et rarement complète.

L'hydrolyse totale acide détruisant moins d'acides aminés, elle est en conséquence la méthode d'hydrolyse la plus utilisée. Mais puisque des conditions optimales pour cette hydrolyse sont parfois difficiles à établir, la réaction est effectuée plusieurs fois dans des conditions différentes et la composition des acides aminés est déduite à partir des différentes expériences d'hydrolyse.

b. Séparation et identification des acides aminés

Plusieurs technique de séparation et d'identification de substances sont utilisées en biochimie : l'électrophorèse, la chromatographie, etc. Elles sont traitées dans le chapitre A.3 en annexe.

c. Analyse quantitative

Dosage colorimétrique Un dosage colorimétrique est possible lorsque qu'une réaction chimique donne des produits colorés et si l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de l'élément à doser. La mesure de l'absorbance de la solution est donnée par un spectrophotomètre qui mesure la densité optique. Plus une solution est colorée, plus la lumière a du mal à traverser, donc plus l'absorbance de la solution augmente.

Dosage des acides aminés Nous avons vu auparavant que les acides aminés réagissent avec la ninhydrine et que cela aboutit à un produit violet pour les amines primaires et à un autre dérivé de couleur jaune pour les amines secondaires (la proline). L'intensité de cette coloration est à la base du dosage des acides aminés par *colorométrie* en mesurant l'absorbance à 570nm. On obtient finalement une estimation du pourcentage de chaque acide aminé contenu dans la chaîne.

B. Détermination de la séquence

Le séquençage des protéines est destiné à connaître le nombre, la nature chimique et l'ordre de tous les résidus d'acides aminés.

On commence par établir la nature de l'acide aminé N-terminal et éventuellement de l'acide aminé C-terminal. S'il existe un seul acide aminé dans les deux cas, il s'agit d'une protéine ayant une chaîne polypeptidique unique. Dans certains cas, on a affaire à une protéine ayant plus d'une seule chaîne polypeptidique. Lorsque c'est le cas, elles sont souvent unies par des liaisons non-covalentes (liaisons H, forces de Van der WAALS, liaisons hydrophobes). On peut donc les séparer en utilisant des solutions d'urée ou de SDS. Les chaînes polypeptidiques sont également réunies par des liaisons covalentes, en particulier des ponts disulfure. Il faut réduire ces ponts (y compris les ponts intramoléculaires) par un agent réducteur comme le 2-mercaptoéthanol.

Ensuite, il faut isoler chaque chaîne en utilisant une méthode adéquate. On peut alors déterminer sa séquence en acides aminés **[36]**.

a. Détermination de l'extrémité N-terminale

Méthode de SANGER : la 1re méthode utilise la réaction de Sanger (cf. arylation). Les fonctions 2-amine des acides aminés et peptides réagissent avec le *2,4-dinitrofluorobenzène* pour former des dérivés jaunes, les *2,4-dinitrophényl-peptides*. Lorsque ces composés sont soumis à une hydrolyse acide, toutes les liaisons peptidiques sont hydrolysées, mais la liaison entre la fonction 2,4-dinitrophényl et la fonction amine de l'acide aminé N-terminal reste stable. On pourra par la suite identifier cet acide aminé, par chromatographie par exemple.

Utilisation du chlorure de dansyle : la 2e méthode utilise le chlorure de dansyle (cf. N-acylation), qui, combiné à une hydrolyse totale acide forme un Dansyl-aminoacide1 (DNS-aa1) et un hydrolysat.

Méthode d'EDMAN : une 3e méthode est celle d'EDMAN, dans laquelle le *phénylisothiocyanate* (PITC) réagit avec la fonction amine N-terminale pour donner un complexe qui, après action d'un acide dans des conditions douces libère une *phénylthiohydantoïne* et le peptide restant intact (cf. carbamylation).

b. Détermination de l'extrémité C-terminale

Hydrazinolyse : l'hydrazine permet de rompre toutes les liaisons peptidiques. Les acides aminés sont transformés en *hydrazines aminoacyles*, à l'exception de l'acide aminé C-terminal qui reste libre et qui pourra être séparé et identifié.

Méthode enzymatique : il existe des enzymes capables de couper le premier ou le dernier acide aminé de la chaîne polypeptidique, on les appelle des *exopeptidases*. Les carboxypeptidases clivent la liaison peptidique située juste avant le dernier acide aminé. Il en existe plusieurs types :

La carboxypeptidase A : clive l'acide aminé C-terminal lorsque celui-ci est aromatique ou aliphatique ;

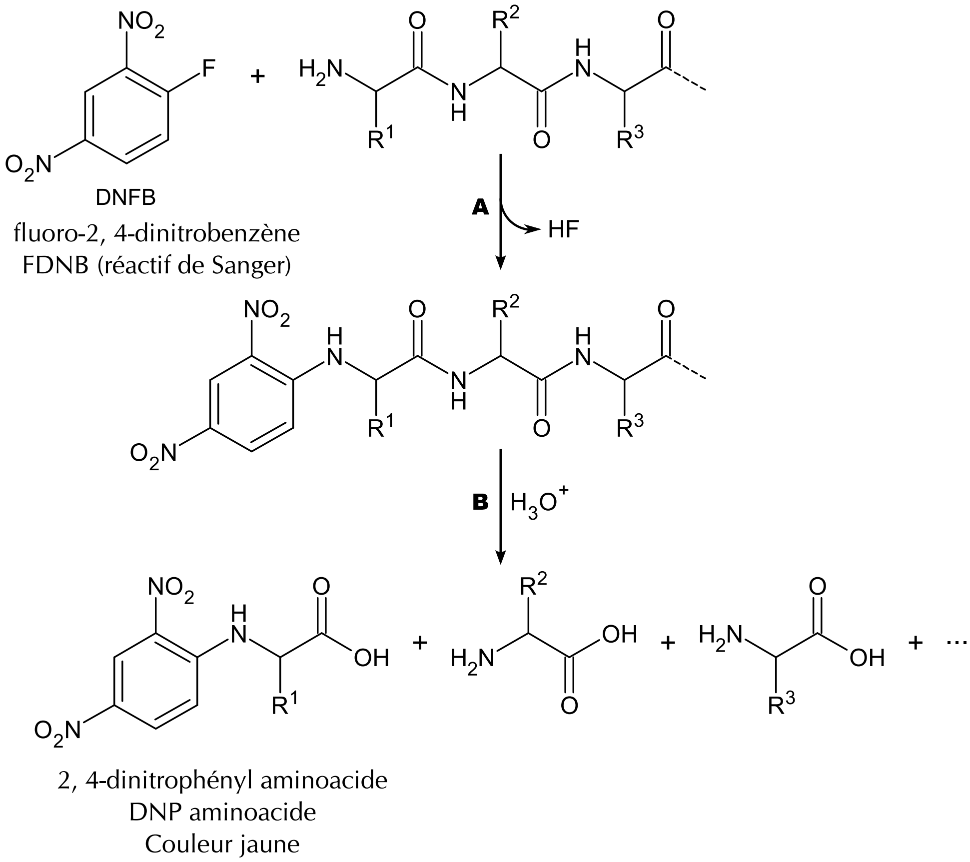


FIGURE 2.32 – Détermination de l'extrémité N-terminale avec la méthode de SANGER.

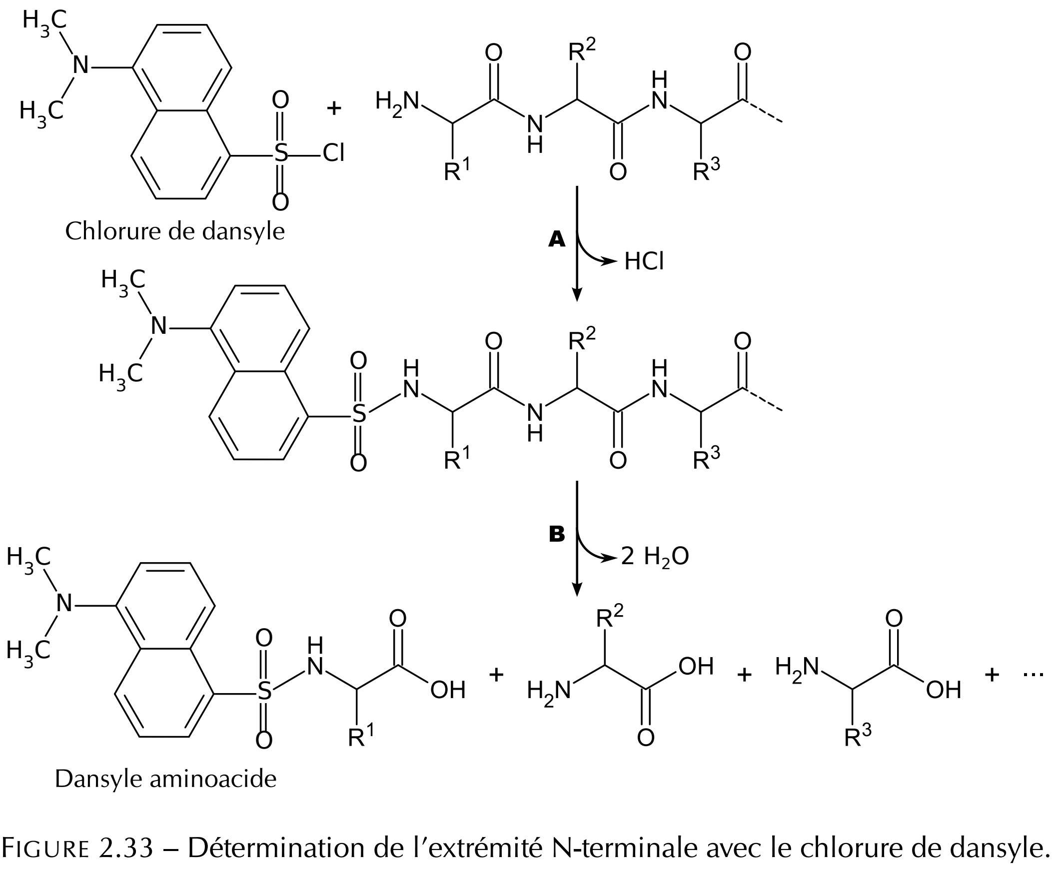


FIGURE 2.33 – Détermination de l'extrémité N-terminale avec le chlorure de dansyle.

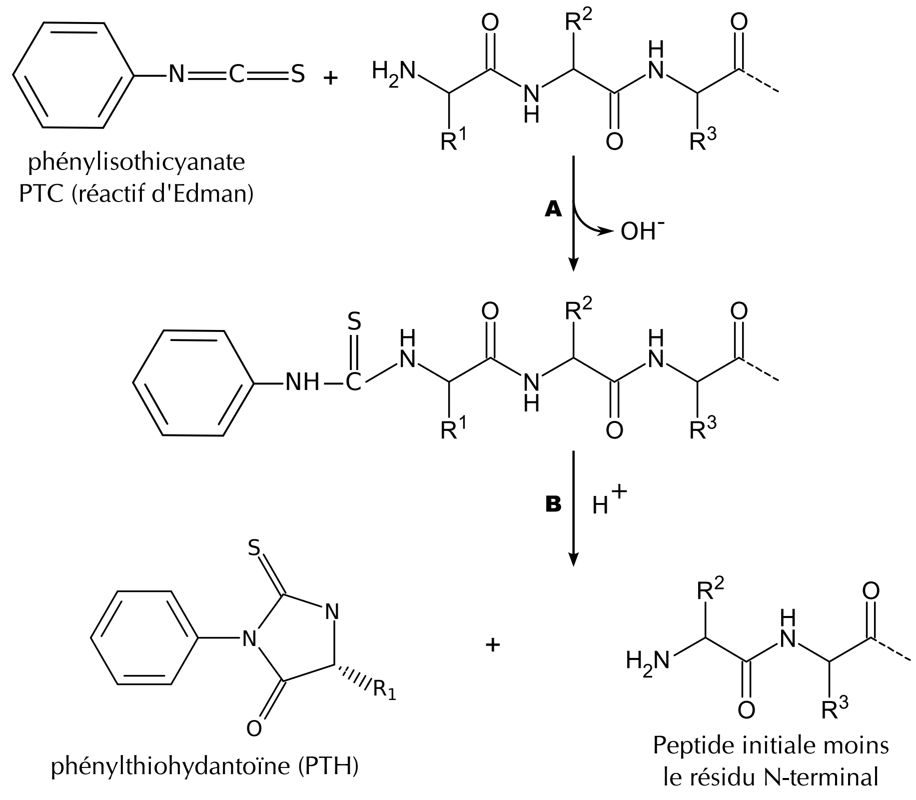


FIGURE 2.34 – Détermination de l'extrémité N-terminale avec la méthode d'EDMAN.

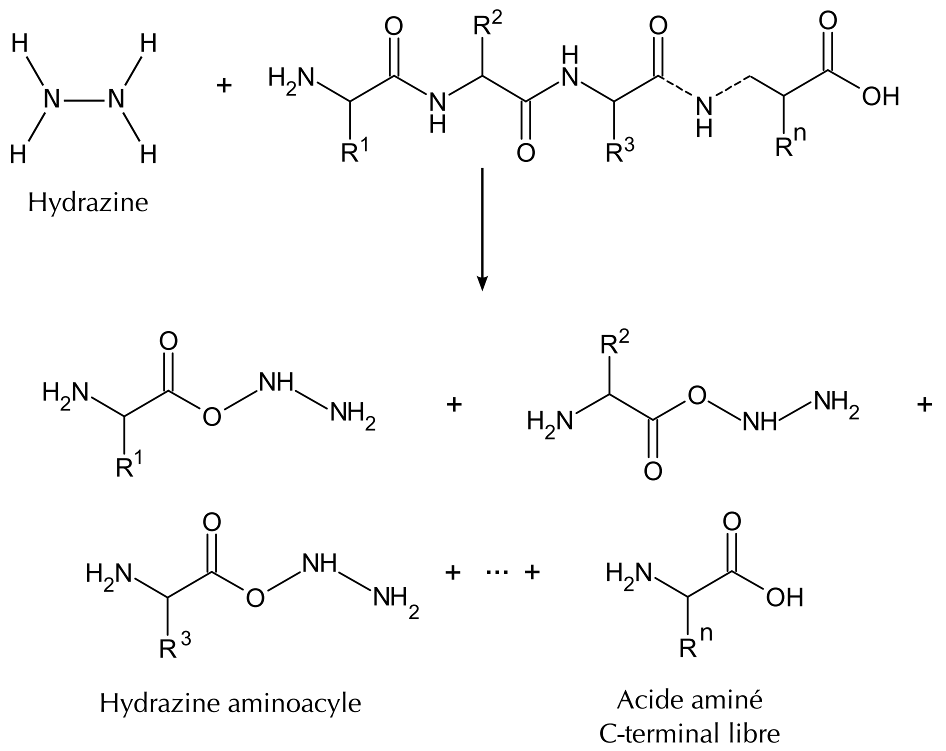


FIGURE 2.35 – Détermination de l'extrémité C-terminale grâce à l'hydrazynolyse.

La carboxypeptidase B : clive l'acide aminé C-terminal lorsque celui-ci est basique (Arginine ou Lysine) ;

c. Détermination de la séquence : la dégradation récurrente d'EDMAN

Les deux premières méthodes de détermination de l'extrémité N-terminale utilisent une hydrolyse totale acide, le reste de la chaîne peptidique voit donc ses acides aminés clivés. Le grand avantage de la méthode d'EDMAN est que la chaîne peptidique reste intacte et peut être récupérée et soumise à nouveau au traitement avec le PITC. À chaque cycle, on aura la libération de l'acide aminé suivant dans la séquence du peptide original.

Cependant, les chaînes polypeptiques sont souvent trop longues pour être directement séquencées, car cette méthode permet de fournir la séquence de peptides comportant au maximum 50 résidus d'acides aminés. Le problème consiste donc à morceler la chaîne polypeptidique en petits fragments peptidiques par des réactions spécifiques puis de séquencer chaque fragment et mettre bout à bout les peptides afin de reconstituer l'ensemble de la séquence **[37]**.

d. Fragmentation de la chaîne polypeptidique

Hydrolyse chimique spécifique : le bromure de cyanogène (BrCN) hydrolyse la liaison peptidique du côté carboxyle de la méthionine.

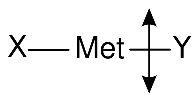


FIGURE 2.36 – Clivage d'une liaison peptidique par le brumure de cyanogène.

Hydrolyse enzymatique spécifique : les *endopeptidases* hydrolysent des liaisons peptidiques internes entre deux aminoacides i, $(i+1)$. Elles peuvent peut être spécifique du résidu en position i ou $(i+1)$.

Enzyme	Résidu i	Résidu $(i+1)$
Trypsine	Arg, Lys	
Chymotrypsine	Phe, Tyr, Trp	
Thermolysine		Leu, Ile, Val [2].

2.3.2 Structure secondaire des protéines

La structure secondaire caractérise le premier degré de repliement de la chaîne polypeptidique. Elle décrit le repliement local de la chaîne principale d'une protéine dû à des interactions entre les résidus d'acides aminés, par l'intermédiaire de liaisons hydrogènes.

L'existence de structures secondaires vient du fait que les repliements énergétiquement favorables de la chaîne peptidique sont limités et que seules certaines conformations sont possibles. Les structures secondaires les plus courantes sont les hélices α et les feuillets β.

A. Hélice α

L'hélice α est une structure périodique très fréquente dans le repliement des protéines et des peptides. Elle se caractérise par la formation de liaisons hydrogènes parallèles à l'axe de l'hélice, entre le

2. Différentes sources (wikipédia anglaise, le polycopié de Biochimie Licence STE, polycopié de KESSOUS etc.) indiquent des acides aminés différents quand à l'action de la thermolysine. Face à cette confusion il a été choisi de garder ceux indiqués sur le polycopié de KESSOUS.

groupement carbonyle –CO d'un résidu i et le groupement amide –NH d'un résidu $(i+4)$. Les radicaux des résidus sont à l'extérieur de l'hélice, ce qui minimise les encombrements stériques.

Cette structure a été prédite et baptisée hélice alpha par Linus PAULING et ses collaborateurs en 1951 sur des considérations théoriques, avant que cela ne soit confirmé quelques années plus tard par la biologie structurale.

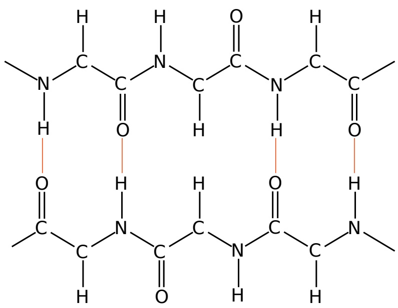
Un tour d'hélice correspond à 3,6 résidus (d'acides aminés). Les hélices comprennent au minimum 5 résidus et au maximum 40 résidus.

Certains acides aminés exercent une influence sur la stabilité de la structure hélicoïdale. La *leucine*, le *tryptophane* et la *phénylalanine* stabilisent l'hélice grâce à des interactions hydrophobes. En revanche, la *valine*, l'*isoleucine*, la *tyrosine* et des *résidus diacides et dibasiques* voisins la déstabilisent. La présence de proline dans une chaîne polypeptidique entraîne souvent l'interruption de la structure en hélice alpha **[38]**.

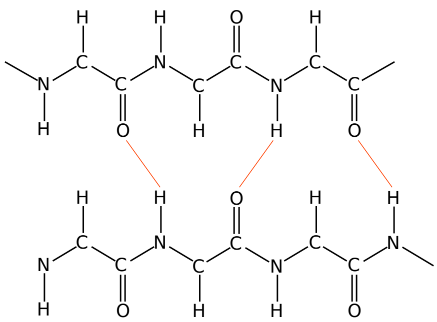
B. Feuillet β

Les liaisons hydrogène des atomes d'oxygène –CO et d'hydrogène –NH d'une liaison peptidique se répètent non plus sur une portion continue de la chaîne peptidique mais entre des segments différents qui peuvent appartenir à la même chaîne ou à des chaînes différentes.

Cette structure est une structure à plat, étirée et étalée : feuillet β plissé. Le sens peptidique des deux brins adjacents peut être identique ou contraire, les feuillets sont respectivement dits parallèles ou antiparallèles. Ces derniers sont plus stables, les liaisons H subissant de plus faibles distorsions. Les chaînes latérales des résidus se distribuent alternativement de part et d'autre du plan moyen **[39]**.



Feuillet bêta antiparallèle



Feuillet bêta parallèle

FIGURE 2.37 – Structures en feuillets β.

2.3.3 Structure tertiaire des protéines

L'arrangement spatial des structures secondaires locales aboutit à une forme globale spécifique de la protéine maintenue par des interactions qui peuvent être de nature différente :

- interactions covalentes (ponts disulfures entre cystéines) ;
- interactions électrostatiques (liaisons ioniques, liaisons hydrogènes) ;
- interactions de Van Der Waals ;
- interactions avec le solvant : dans l'eau, les chaînes latérales polaires pourront être exposées au solvant, alors que les chaînes latérales apolaires auront tendance à « s'enfouir » dans des poches hydrophobes de la protéine.

La structure tertiaire d'une protéine est le paramètre fondamental dont dépend l'expression de ses fonctions biologiques qu'elles soient structurales ou dynamiques (protéines des membranes ou du cytosquelette, récepteurs, enzymes, etc). Cette structure est très dépendante des interactions que nous venons de décrire. Ces interactions subissent l'influence du milieu dans lequel elles se trouvent (solvant, température, pH, force ionique, agents détruisant ces interactions, etc).

La conformation native de la protéine est la structure tertiaire qui correspond à celle qui exprime sa fonction biologique dans les conditions physiologiques. Un traitement détruisant cette structure qui a pour conséquence de supprimer sa fonction est appelé *dénaturation* : elle aboutit à un état plus désorganisé de la molécule **[40]**.

Avant de nous arrêter, citons les deux grands types de structure des protéines :

A. Protéines fibreuses

Les protéines fibreuses ou scléroprotéines sont de longues molécules de protéines en forme de filaments qui forment l'une des deux principales classes de protéines (l'autre étant celle des protéines globulaires). Les protéines fibreuses sont trouvées dans les tissus et les éléments de structure comme les muscles, les os, la peau, les composants ou les membranes cellulaires. Elles accomplissent des tâches *structurelles* et se composent d'unités aux structures secondaires simples et répétitives (hélice alpha et feuillet bêta). Le **collagène** et la **kératine** sont des protéines fibreuses présentant une conformation en hélice alpha, la **fibroïne de soie** a une conformation en feuillet plissé bêta **[41]**.

B. Protéines globulaires

Les protéines globulaires jouent un rôle essentiel dans le métabolisme et remplissent plusieurs autres fonctions. Les *enzymes*, un groupe de protéines possédant une activité hautement spécifique, constituent un sous-groupe essentiel des protéines globulaires. Les autres protéines globulaires sont les *hormones* (insuline par exemple), les *protéines motrices* (par exemple, la myosine du muscle), les *protéines de transport* (hémoglobine), les *protéines de l'immunité* dans le sang des animaux vertébrés (par exemple, immunoglobuline), etc. **[41]**.

2.3.4 Structure quaternaire des protéines

Beaucoup de protéines sont constituées par l'association de sous-unités ayant déja une structure tertiaire stable. L'arrangement spatial de ces sous-unités est ce qu'on appelle la structure quaternaire d'une protéine.

Le principal élément de stabilisation des structures quaternaires est l'interaction hydrophobe entre les acides aminés non polaires : les parties hydrophobes des monomères s'agglutinent de manière à minimiser leur surface exposée au solvant (attraction hydrophobe). Des forces électrostatiques peuvent aussi stabiliser la structure ainsi que des liaisons hydrogène. On peut observer dans des rares cas des ponts disulfures reliant entre elles deux sous-unités, comme c'est le cas de l'insuline.

Chapitre

3

Dans ce chapitre

Enzymologie

L'enzymologie est la branche de la biochimie qui étudie les enzymes.

Une enzyme (parfois utilisé au masculin, l'Académie des Sciences suggère l'utilisation du féminin) est une protéine spécialisée dans la *catalyse des réactions chimiques du métabolisme* se déroulant dans le milieu cellulaire ou extracellulaire. Les enzymes agissent à faible concentration et elles se retrouvent intactes en fin de réaction.

La catalyse est l'action d'une substance appelée catalyseur sur une transformation chimique dans le but de modifier sa vitesse de réaction, appelée aussi *cinétique chimique*.

Les isoenzymes (ou isozymes) sont des enzymes présentant une séquence d'acides aminés différente d'une autre enzyme mais catalysant la même réaction chimique. Ces enzymes présentent habituellement des paramètres cinétiques différents ou des propriétés de régulation différentes.

Une proenzyme ou zymogène est un précurseur protéique d'une enzyme, c'est-à-dire un composé protidique inactif, dépourvu d'activité enzymatique, mais qui peut donner après activation une enzyme active.

3.1 Nature et structure des enzymes

3.1.1 Constitution

À l'exception des ribozymes qui sont des ARN possédant une fonction catalytique, les enzymes sont toujours des protéines et possèdent donc l'ensemble de leurs propriétés physico-chimiques.

Il existe deux grandes catégories d'enzymes :

Enzymes purement protéiques : ce sont des enzymes constituées uniquement d'acides aminés.

Holoenzymes : ce sont des enzymes en deux parties, une partie protéique, l'**apoenzyme** et une partie non protéique, le **cofacteur**. Ces cofacteurs peuvent être classés en deux groupes : *éléments métalliques* et *petites molécules organiques* dites **coenzymes**. Coenzymes et cofacteurs peuvent se lier si étroitement qu'ils font effectivement partie de la protéine au point qu'ils sont appelés **groupements prosthétiques**. Le coenzyme est considéré comme un véritable substrat de la réaction car il est modifié au cours de la réaction.

3.1.2 Notions de spécificité

La réaction enzymatique se déroule schématiquement en deux étapes :

1. la fixation du substrat (S, molécule à transformer) sur l'enzyme ;
2. la catalyse et la transformation du substrat en un composé P (le produit de la réaction) qui découle directement du substrat ;

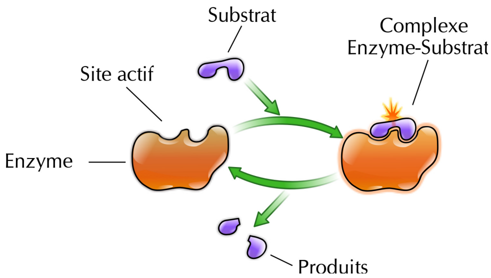


FIGURE 3.1 – L'action d'un enzyme.

Cette double action de fixation du substrat et de catalyse permet d'introduire la notion de spécificité de réaction et de spécificité de substrat.

Spécificité de substrat : la spécificité de substrat correspond au fait qu'une enzyme fixe et transforme un substrat donné et non un autre.

Spécificité de réaction : la spécificité de réaction correspond au fait qu'une enzyme catalyse une réaction chimique donnée et non une autre. Une enzyme peut ainsi ouvrir une voie métabolique en dirigeant le métabolisme d'un substrat vers une cascade de réactions, au détriment d'autres possibilités métaboliques pour ce même substrat.

3.1.3 Site actif

La fonction des enzymes est liée à la présence dans leur structure (secondaire et tertiaire) d'un site particulier appelé le **site actif**. Schématiquement, il a la forme d'une cavité ou d'un sillon (*zone hydrophobe interne*) dans lequel vont se fixer les substrats grâce à plusieurs liaisons chimiques faibles. Une fois fixés, les substrats vont réagir et se transformer en produit.

Le site actif est subdivisé en deux parties :

Site de liaison : dit aussi site de *fixation* ou de *reconnaissance*, reconnaît la complémentarité de forme avec un substrat spécifique à l'enzyme.

Site catalytique : permet la réaction transformant le substrat en produit.

3.1.4 Mécanisme de la catalyse enzymatique

Les réactifs sont les substrats de l'enzyme et comme beaucoup d'enzymes ont une activité réversible, les produits peuvent devenir substrats. Pour qu'une réaction chimique se fasse, il faut délivrer une certaine énergie, l'*énergie d'activation*. Une enzyme diminue l'énergie d'activation à fournir la réaction se retrouve donc accélérée mais l'état d'équilibre atteint n'est pas modifié, il ne dépend pas de l'enzyme.

3.2 Classification des enzymes

Initialement, les enzymes ont été dénommées par un nom trivial. Devant l'augmentation du nombre d'enzymes découvertes, une commission internationale a établi une classification des enzymes, fondée sur les notions de spécificité de réaction et de spécificité de substrat. La spécificité de réaction permet ainsi de distinguer six classes de réactions et donc six grandes classes d'enzymes dénommées **EC** pour « Enzyme Classification » :

EC 1 Oxydo-réductases : catalysent les réactions d'oxydo-réduction ;

EC 2 Transférases : transfèrent un groupement fonctionnel (par exemple un groupe méthyle ou phosphate) ;

EC 3 Hydrolases : catalysent l'hydrolyse de diverses liaisons ;

EC 4 Lyases : brisent diverses liaisons par d'autres procédés que l'hydrolyse et l'oxydation ;

EC 5 Isomérases : catalysent les réactions d'isomérisation dans une simple molécule ;

EC 6 Ligases : joignent deux molécules par des liaisons covalentes ;

Dans cette classification, chaque enzyme est en fait définie par une nomenclature à quatre chiffres. Le premier chiffre correspond à la spécificité de réaction, les deux chiffres suivants correspondent à la notion de spécificité de substrat, le quatrième et dernier chiffre étant fixé de façon arbitraire par la commission.

Exemple : l'enzyme tripeptide aminopeptidase a le code EC 3.4.11.4.

3.3 Cinétique enzymatique

La cinétique enzymatique a pour objet d'identifier et de décrire les mécanismes des réactions biochimiques, catalysées par les enzymes, en étudiant leur vitesse c'est-à-dire leur évolution en fonction du temps.

3.3.1 Ordre d'une réaction

Dans le cas le plus général, la loi de vitesse caractéristique d'une réaction chimique ne peut pas être établie à priori, mais seulement à partir de l'expérience. Phénoménologiquement, la vitesse peut s'écrire :

$$v = k[A]^{\alpha}[B]^{\beta}[C]^{\gamma}...$$

où les A, B, C .. sont les réactifs et les produits intervenant dans la réaction chimique.

Constante de vitesse : k est appelée constante de vitesse. C'est une constante pour les paramètres thermodynamiques : température, pression, concentrations initiales déterminées.

Ordres partiels de réaction : α, β, γ sont appelés les ordres partiels de réaction par rapport à l'espèce chimique pour laquelle ils sont exposants. Dans le cas le plus général, ils ne sont pas égaux aux coefficients stœchiométriques des réactifs et des produits.

Ordre de réaction : $n = \alpha + \beta + \gamma + ...$, n est appelé l'ordre (global) de la réaction.

L'étude expérimentale des différentes courbes $v = f([A])$ permet de déterminer les ordres partiels de la réaction.

A. Réaction d'ordre zéro

Soit une réaction élémentaire :

$$\mathrm{A} \quad \rightarrow \quad \mathrm{P}$$

Si la réaction est d'ordre zéro, la vitesse de réaction ne dépend pas des concentrations des produits intervenant dans la réaction :

$$v = k = -\frac{d[A]}{dt}$$

D'où en intégrant :

$$[A] = [A]_0 - k \cdot t$$

Où $[A]_0$ est la concentration de A à l'instant $t = 0$ La concentration des réactifs diminue linéairement en fonction du temps, et évidemment celle des produits augmente linéairement en fonction du temps. Une représentation de $[A] = f(t)$ est une droite de pente $-k$.

B. Réaction du premier ordre

La vitesse de ces réactions est proportionelle à la concentration d'un réactif.

$$v = -\frac{d[A]}{dt} = k \cdot [A]$$

La concentration des réactifs diminue exponentiellement en fonction du temps, et évidemment celle des produits augmente exponentiellement en fonction du temps.

C. Réaction du second ordre

La vitesse de ces réactions est proportionnelle au produit des concentrations des deux réactifs ou au carré de la concentration d'un seul réactif.

La concentration des réactifs diminue hyperboliquement en fonction du temps, et évidemment celle des produits augmente hyperboliquement en fonction du temps.

3.3.2 Modèle de Michaëlis-Menten

L'équation de MICHAELIS-MENTEN (ou de MICHAELIS-MENTEN-HENRI) permet de décrire la cinétique d'une réaction catalysée par une enzyme agissant sur un substrat *unique* pour donner un produit. Elle relie la vitesse de la réaction à la concentration de substrat et à des paramètres constants, caractéristiques de l'enzyme. Elle est adaptée à de nombreuses enzymes, mais ne permet cependant pas de rendre compte de comportements complexes, comme la multiplicité des substrats ou l'existence de plusieurs sites actifs présentant des comportements coopératifs ou anticoopératifs (allostérie).

A. Équation de MICHAELIS-MENTEN

$$\mathrm{E + S} \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} \mathrm{ES} \underset{k_4}{\overset{k_3}{\rightleftharpoons}} \mathrm{E + P}$$

Avec k_1, k_2, k_3, k_4 les constantes de vitesse des réactions. L'analyse de MICHAELIS-MENTEN se fait en considérant ces réactions comme des réactions d'ordre 1 et sous deux hypothèses simplificatrices :

Hypotèse de la vitesse initiale : on se place dans des conditions initiales où il n'y a pas de produit P dans le test enzymatique. On analyse la vitesse initiale de la réaction, avant que le produit ait le temps de s'accumuler. La catalyse est alors très déplacée dans le sens de la synthèse des produits, la réaction inverse dont la vitesse est $k_4[E][P]$ est alors pratiquement inexistante, puisque $[P] \simeq 0$.

Hypotèse de l'état stationnaire : on suppose que le premier équilibre dans l'équation ci-dessus, dépendant des constantes cinétiques k_1 et k_2 est très rapide devant l'étape de catalyse proprement dite, déterminée par k_3, qui est en général limitante. Ceci revient à dire qu'à tout instant on a $\frac{d[ES]}{dt} = 0$.

Le système se simplifie alors de la manière suivante :

$$E + S \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_3} E + P$$

– la vitesse de formation du complexe $[ES]$ est $v = k_1 \cdot [E] \cdot [S]$;
– la vitesse d'élimination du complexe $[ES]$ est $v = (k_2 + k_3) \cdot [ES]$;
– pendant la phase stationnaire, la concentration du complexe enzyme-substrat$[ES]$ est constante. Donc la vitesse de formation de ce complexe $[ES]$ doit être égale à celle de dissociation :

$$k_1 \cdot [E] \cdot [S] = (k_2 + k_3) \cdot [ES]$$

$$\frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{k_2 + k_3}{k_1}$$

La constante de MICHAELIS

Le rapport des constantes k_1, k_2 et k_3 est aussi une constante, cette dernière est définie comme la constante de MICHAELIS : K_m.

$$K_m = \frac{k_2 + k_3}{k_1}$$

K_m a la dimension d'une concentration et s'exprime en $mol \cdot L^{-1}$.

Comme $[ES]$ est difficile à déterminer expérimentalement, on cherche à s'en affranchir à l'aide d'une autre équation. En appelant $[E_T]$ la concentration totale en enzyme, la concentration en enzyme libre est égale à :

$$[E] = [E_T] - [ES]$$

$$[ES] = \frac{[E][S]}{K_m} = \frac{([E_T] - [ES])[S]}{K_m}$$

$$K_m[ES] = [E_T][S] - [ES][S]$$

$$[ES](K_m + [S]) = [E_T][S]$$

$$[ES] = \frac{[E_T][S]}{K_m + [S]}$$

$$v = k_3 \cdot [ES] = k_3 \cdot \frac{[E_T][S]}{K_m + [S]}$$

La vitesse de la réaction est maximale (V_M) lorsque toute l'enzyme est sous forme de complexe enzyme-substrat, c'est-à-dire lorsque la concentration en complexe est égale à la concentration totale en enzyme $[E_T]$. On peut écrire :

$$V_M = k_3[E_T]$$

$$v = \frac{V_M[S]}{K_m + [S]}$$

C'est l'équation de MICHAELIS et MENTEN.

La courbe qui traduit les variations de v en fonction de $[S]$ selon cette équation est une **branche d'hyperbole** équilatère qui tend asymptomatiquement vers V_M (**figure 3.2**).

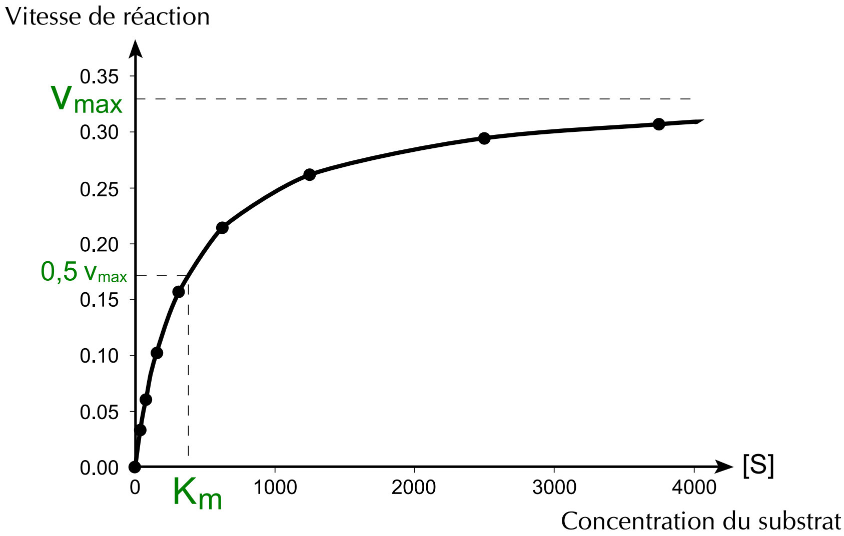


FIGURE 3.2 – Représentation de Michaelis montrant la vitesse en fonction la concentration du substrat.

Analogie : lors d'une vente de billets pour un concert, s'il n'ya pas de file d'attente, le nombre de billets vendus par heure dépend du nombre de clients. Si au contraire il y a une file d'attente en permanence, ce nombre dépend de la capacité du vendeur à servir.

Autre définition de la constante de MICHAELIS

Quand la concentration en substrat $[S]$ est égale à K_m, on a :

$$v = \frac{V_M K_m}{K_m + K_m} = \frac{V_M}{2}$$

La constante de MICHAELIS est la concentration en substrat qui fait prendre à la réaction enzymatique une vitesse égale à la moitié de la vitesse maximale.

Si une enzyme a un K_m faible, il suffit d'une faible concentration de substrat pour que la vitesse maximale soit atteinte : l'enzyme a une affinité élevée pour son substrat. Au contraire si la constante de MICHAELIS a une valeur importante, c'est que l'enzyme a une faible affinité pour son substrat.

B. Représentation de LINEWEAVER-BURK

Il existe plusieurs possibilités de réarrangement de l'équation de MICHAELIS-MENTEN qui permettent de la transformer en un équation linéaire. La plus connue est la représentation *en double inverse selon* LINEWEAVER-BURK.

En prenant l'inverse des deux côtés de l'équation de MICHAELIS-MENTEN, nous obtenons :

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_M}\left(\frac{1}{[S]}\right) + \frac{1}{V_M}$$

Qui est du type $y = ax + b$ (équation d'une droite) dans laquelle :

1. $y = \frac{1}{v}$
2. $a = \frac{K_m}{V_M}$
3. $x = \frac{1}{[S]}$
4. $b = \frac{1}{V_M}$

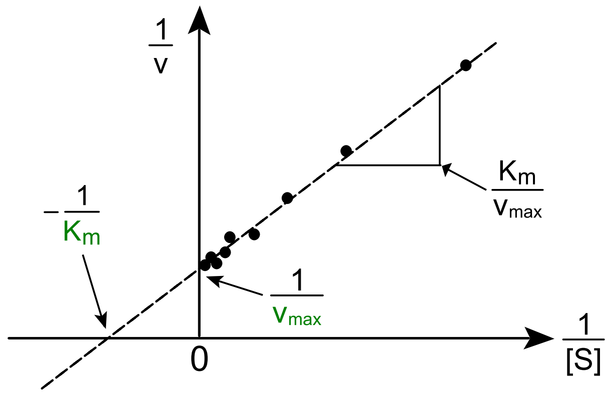


FIGURE 3.3 – Représentation de Lineweaver et Burk.

3.3.3 Effets du pH sur l'activité enzymatique

La reconnaissance enzyme-substrat et l'activité catalytique qui s'ensuit sont très dépendantes du pH. Une enzyme possède un grand nombre de chaînes latérales ionisable et parfois des groupements prosthétiques intimement impiqués dans son site actif. De plus, le substrat a souvent des groupes ionisés, et l'une ou l'autre des formes ionisées peut préférentiellement être en interaction avec l'enzyme. C'est pourquoi les enzymes ne sont en général *actives que dans une zone de pH limitée, et la plupart ont une activité catalytique optimale à un pH particulier*.

3.3.4 Effets de la température sur l'activité enzymatique

En conditions optimales, la température doit approcher en général les 37 à 38 °C. Ces valeurs sont indicatives d'enzymes d'animaux à sang chaud, soit presque la température du corps. À l'inverse, si la température dépasse les 60 °C, l'enzyme est dénaturée (rupture des liaisons hydrogènes situées dans des parties variables de la protéine), il y a modification du site actif, et la réaction ne peut pas avoir lieu. Si la température est en dessous de 5 °C, l'enzyme est inactivée car l'agitation moléculaire provoquée par la chaleur est limitée : les molécules de substrat et les enzymes se rencontrent difficilement. Il existe des enzymes thermostables, telles que par exemple l'ADN polymérase utilisée dans la PCR.

3.4 Inhibition enzymatique

Un inhibiteur enzymatique est une substance se liant à une enzyme et qui en diminue l'activité. Un inhibiteur peut empêcher la fixation du substrat sur le site actif en se fixant à sa place, ou provoquer une déformation de l'enzyme qui rend celle-ci inactive (inhibiteur allostérique).

L'inhibition des enzymes joue un rôle important dans le contrôle des mécanismes biologiques, et notamment dans la *régulation des voies métaboliques*. Puisque l'inhibition d'une enzyme peut tuer un pathogène ou corriger un déséquilibre métabolique, des applications existent dans de nombreux autres domaines : beaucoup de médicaments, pesticides ou insecticides sont des inhibiteurs enzymatiques. En enzymologie, les inhibiteurs sont très utilisés pour déterminer le mécanisme d'action d'une enzyme. Toutes les molécules se liant à une enzyme ne sont pas des inhibiteurs, les activateurs enzymatiques existent également et accroissent l'activité de l'enzyme.

A. Inhibiteur compétitif

Un inhibiteur compétitif possède généralement une ressemblance structurale avec le substrat et tous deux entrent en compétition pour se fixer sur le même site enzymatique (effet isostérique). La réaction enzymatique est bloquée, soit parce que l'inhibiteur ne possède pas le groupement chimique transformé par l'enzyme, soit parce que la position de groupement chimique sur l'inhibiteur rend impossible sa reconnaissance par le site actif.

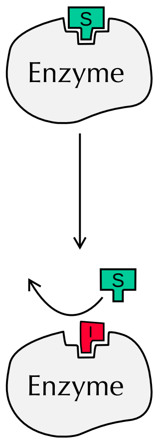


FIGURE 3.4 – Inhibition compétitive.

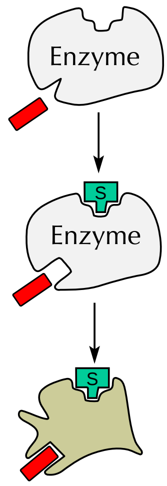


FIGURE 3.5 – Inhibition incompétitive.

Schéma et équation de MICHAELIS-MENTEN dans le cas d'une inhibition compétitive :

$$\mathrm{E + S \longrightarrow ES \longrightarrow E + P}$$
$$\mathrm{E + S \overset{+I}{\rightleftharpoons} EI}$$

$$v = \frac{V_M[S]}{[S] + K_m(1 + \frac{[I]}{K_i})} \qquad \frac{1}{v} = \frac{K_M}{V_M}\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_M}$$

Par rapport à l'équation classique de MICHAELIS-MENTEN, la vitesse maximale de la réaction $\boldsymbol{V_M}$ **reste inchangée**, mais l'affinité de l'enzyme pour le substrat diminue ($\boldsymbol{K_M}$ **augmente**) car ce dernier ne peut pas se lier au complexe enzyme-inhibiteur. Dans le cas d'une inhibition compétitive, il est possible de lever l'inhibition en saturant l'enzyme en substrat.

L'affinité d'un inhibiteur pour une enzyme est donnée par la constante d'inhibition K_i, qui représente la concentration en inhibiteur pour laquelle la moitié des sites enzymatiques sont occupés. Ainsi, l'affinité d'un inhibiteur est d'autant plus grande que le K_i est petit. Cette constante d'inhibition, exprimée en mole par litre correspond aussi à la constante de dissociation du complexe enzyme-inhibiteur.

B. Inhibiteur incompétitif

Un inhibiteur incompétitif ne se fixe jamais à l'enzyme libre mais seulement à l'enzyme complexée avec le substrat ES et empêche la formation des produits. Généralement, la liaison du substrat sur l'enzyme entraîne une modification de la conformation de l'enzyme, révélant ainsi un site de fixation pour l'inhibiteur. L'inhibiteur, en retour, modifie la conformation du site actif de l'enzyme, et empêche la réaction. Comme son nom l'indique, un inhibiteur incompétitif n'entre pas en compétition avec un substrat sur son site de fixation.

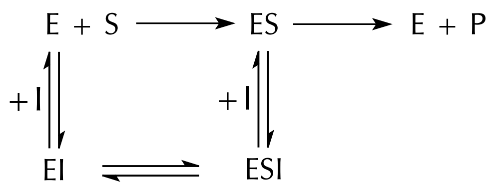
$$\mathrm{E + S \longrightarrow ES \longrightarrow E + P}$$
$$\mathrm{ES \overset{+I}{\rightleftharpoons} ESI}$$

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_m} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1 + \frac{[I]}{K_i}}{V_{max}}$$

La vitesse maximale de la réaction **diminue**, mais l'affinité apparente de l'enzyme pour le substrat augmente ($\boldsymbol{K_M}$ **diminue**). En effet, la formation du complexe enzyme-substrat-inhibiteur diminue le nombre de complexes ES et, d'après la Loi d'action de masse, favorise la liaison du substrat sur l'enzyme. Les effets d'un inhibiteur incompétitif ne se manifestent pas pour de faibles concentrations en substrat, l'enzyme étant majoritairement sous forme libre. Ainsi, ce type d'inhibition ne peut pas être levé en augmentant la concentration du substrat.

c. Inhibiteur non compétitif

Un inhibiteur non compétitif peut se lier à la fois, et avec une même affinité, sur l'enzyme libre et sur l'enzyme liée au substrat. Cependant, l'inhibiteur et le substrat n'entrent pas en compétition pour se fixer sur un même site : le substrat se lie au site actif, et l'inhibiteur à un autre site de fixation. L'inhibiteur entraîne une modification de la conformation du site actif, ce qui empêche la transformation du substrat en produit mais n'influe pas sur la reconnaissance entre l'enzyme et le substrat.



$$\frac{1}{v} = \frac{K_M}{V_m}\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_m}\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)$$

La fixation d'un inhibiteur non compétitif **diminue** la vitesse maximale de la réaction, mais **ne modifie pas** l'affinité de l'enzyme pour le substrat, car ce dernier se lie aussi bien à l'enzyme libre qu'au complexe EI. L'efficacité enzymatique diminue, une partie des enzymes (celles liés à l'inhibiteur) ne plus plus transformer le substrat en produit. On a donc une apparente diminution de la quantité d'enzymes actives.

Une inhibition non compétitive ne peut pas être levée par une augmentation de la concentration en substrat.

3.4.1 Inhibition irréversible, inhibition « suicide »

L'inhibition suicide est un mécanisme où l'inhibiteur forme un complexe stable avec l'enzyme qui l'inactive de façon permanente. L'enzyme reconnait l'inhibiteur comme son substrat et entame le processus de modification de ce dernier. Intervient alors une étape au cours de laquelle l'inhibiteur modifié devient très réactif et se lie de façon très stable à l'enzyme. L'enzyme contribue ainsi à sa propre inactivation irréversible d'où le nom d'inhibition « suicide ». L'inhibiteur peut se placer sur le site catalytique de l'enzyme ou ailleurs.

Exemples :

- l'aspirine inhibe la cyclooxygénase active qui transforme l'acide arachidonique en une prostaglandine ;
- la pénicilline est un inhibiteur suicide de la transpeptidase intervenant dans la synthèse du peptidoglycane, composant de la paroi des bactéries. Son cycle bêta-lactame étant très labile réagit avec le site actif de l'enzyme. Elle se fixe alors de façon thermodynamiquement très stable à l'enzyme au niveau de ce dernier.

3.5 Allostérie

L'allostérie est un mode de régulation de l'activité d'une enzyme par lequel la fixation d'une *molécule effectrice* en un site, dit *site allostérique*, modifie les conditions de fixation d'une autre molécule, en un autre site distant de la protéine.

3.5.1 Principes de l'allostérie

La fixation de la molécule effectrice induit un changement de conformation spatiale de la protéine enzymatique que l'on appelle **transition allostérique**. Cela a pour conséquence de modifier le site de liaison et l'affinité des différentes sous-unités pour le substart catalysé ainsi que la cinétique de la réaction enzymatique.

Dans le modèle de MONOD-WYMAN-CHANGEUX, dit MWC, les enzymes allostériques doivent présenter plusieurs propriétés :

- elles sont multimériques, généralement oligomériques avec un nombre paire de sous unités, chaque protomère (ou monomère) fixe une molécule de ligand ;
- elles possèdent au moins un axe de symétrie ;
- elles existent sous deux conformations différentes : l'une appelée T, pour *tendue*, désignant conventionnellement la forme de *faible affinité* pour le substrat, l'autre R, pour *relaxée*, de *forte affinité* pour le substrat ;
- au sein d'une protéine, les protomères adoptent tous la même configuration, R ou T (transition concertée).

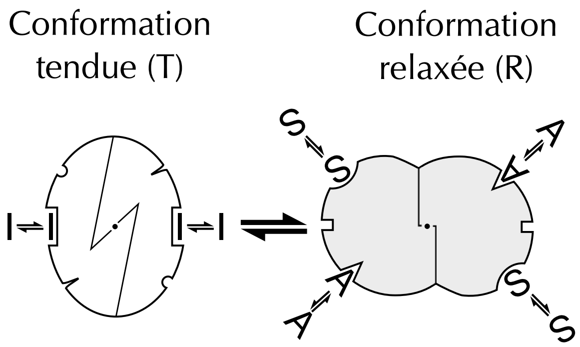


FIGURE 3.6 – Modes possibles de transition allostérique selon le modèle MWC.
Wikipédia, CC BY-SA 3.0

Enzymes allostériques homotropes : le substrat de l'enzyme est également sa molécule effectrice.

Enzymes allostériques hétérotropes : la molécule effectrice de l'enzyme est une molécule autre substrat.

Enzymes allostériques mixtes : certaines protéines allostériques peuvent être régulées par leurs substrats et d'autres molécules.

3.5.2 Cinétique des enzymes allostériques

De manière générale, les enzymes allostériques n'obéissent pas à la cinétique Michaelienne.

A. Types de modulation allostérique

Allostérie positive : il existe une *allostérie positive* où la fixation d'un effecteur augmente l'affinité de liaison du ligand. On parle de fixation *coopérative*.

Allostérie négative : le cas inverse existe aussi, dans une *allostérie négative* la fixation de l'effecteur diminue l'affinité du ligand.

B. Classes de systèmes allostériques

Système K : les enzymes allostérique appartenant au sytème K (K est le symbole de la constante d'affinité) voient leur constante d'affinité apprante K_m changer en réponse leurs effecteurs, tout en gardant une V_m constante. Elles présentent un courbe de vitesse de réaction en fonction de la concentration en substrat, de type **sigmoïde**.

Système V : les enzymes allostérique du sytème V gardent leur constante d'affinité constante et voient leur V_m changer en réponse leurs effecteurs. Leur courbe représentative est de type **hyperbolique**.

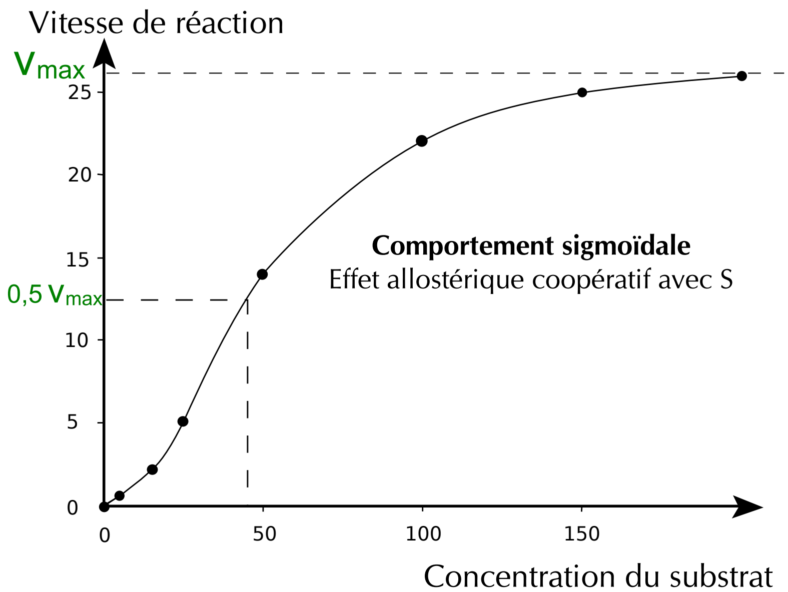


FIGURE 3.7 – Cinétique d'enzymes allostériques homotropes montrant un effet coopératif (+) de type K.

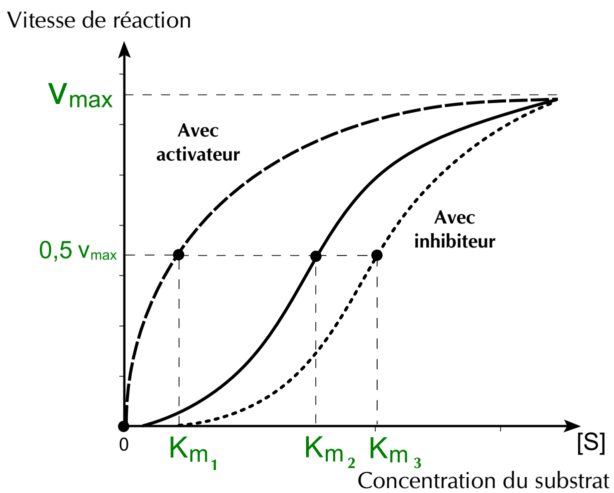


FIGURE 3.8 – Cinétique d'une enzyme de type K.

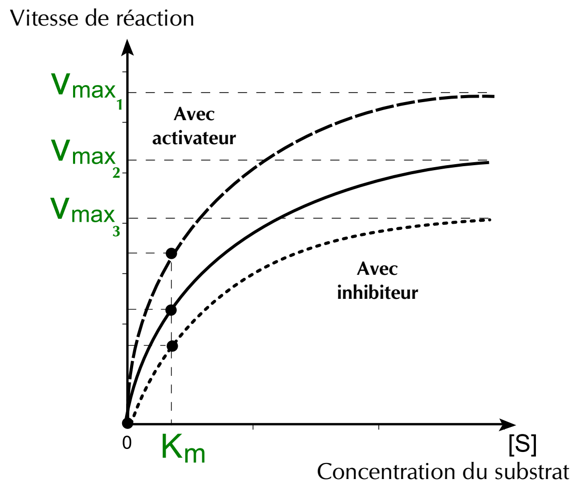


FIGURE 3.9 – Cinétique d'une enzyme de type V.

3.5.3 Désensibilisation de l'enzyme allostérique

La sensibilité de l'enzyme allostérique à son effecteur peut être supprimée par divers facteurs (chaleur, urée...). Cet effet de désensibilisation ne s'accompagne pas par la perte totale de l'activité catalytique de l'enzyme. Une enzyme allostérique désensibilisée ou dont l'effecteur est absent donnera une courbe Michaelienne.

3.5.4 Importance physiologique de l'allostérie

L'allostérie est une forme de régulation de l'activité d'une enzyme en fonction des conditions extérieures changeantes. On peut distinguer l'effet de **rétrocontrôle négatif**.

L'effet de rétrocontrôle négatif est très souvent rencontré dans les voies métaboliques. Le *produit final* de la voie est souvent un *inhibiteur allostérique* d'un enzyme catalysant une étape initiale. Plus le produit final s'accumule, plus la réaction initiale est lente (par diminution de l'affinité à l'un des réactifs de la réaction) et donc moins de produit sera formé. Ce type de régulation évite d'accumuler le produit final, qui peut être toxique dans certaines circonstances et évite à l'organisme de produire en excès une molécule, ce qui est coûteux en énergie. L'effecteur allostérique participe à l'autorégulation de la voie métabolique.

Chapitre

Dans ce chapitre

4

Les glucides

Les glucides sont une classe de molécules organiques contenant un *groupement carbonyle* (aldéhyde ou cétone) et plusieurs *groupements hydroxyle* (–OH). Il faut éviter d'utiliser le mot sucre qui n'est pas scientifique, ou l'expression hydrate de carbone qui ne reflète pas la structure réelle. Leur formule chimique est basée sur le modèle $(C(H_2O))_n$ (d'où l'appellation historique).

Ils font partie, avec les protéines et les lipides, des constituants essentiels des êtres vivants et de leur nutrition, car ils sont un des principaux intermédiaires biologiques de stockage et de consommation d'énergie. Chez les organismes autotrophes, comme les plantes, les sucres sont convertis en amidon pour le stockage. Chez les organismes hétérotrophes, comme les animaux, ils sont stockés sous formes de glycogène puis utilisés comme source d'énergie dans les réactions métaboliques.

Les glucides sont habituellement répartis entre *oses* (monosaccharides tel que le glucose, le galactose ou le fructose) et *osides*, qui sont des polymères d'oses (polysaccharides). Les disaccharides (diholosides), tel que le saccharose ou le lactose, font partie de cette dernière catégorie. Mais seules les monosaccharides et les disaccharides ont un pouvoir sucrant. Les polysaccharides, comme l'amidon, sont insipides.

4.1 Les oses

Les oses sont des *aldéhydes ou des cétones polyhydroxylés*, c'est-à-dire qui contiennent plusieurs fonctions alcool, l'une primaire et les autres secondaires .

On classe les oses selon leur caractère aldéhydique ou cétonique et selon le nombre d'atomes de carbone de leur molécule **[42]** :

1. leur fonction carbonyle :

   Aldoses : ce sont les glucides possédant une fonction **aldéhyde** sur le premier carbone.

   Cétoses : ce sont les glucides possédant une fonction **cétone** sur le deuxième carbone.

2. leur nombre de carbone :

   Trioses : possèdent 3 carbones ;

   Tetroses : possèdent 4 carbones ;

   Pentoses : possèdent 5 carbones ;

   Hexoses : possèdent 6 carbones ;

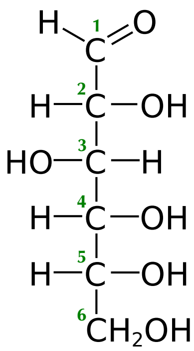
   Heptoses : possèdent 7 carbones ;

   Octoses : possèdent 8 carbones.

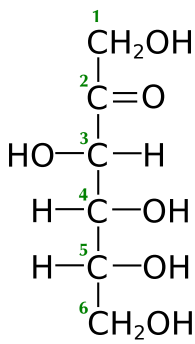
Nous étudirons d'abord la structure plane de ces molécules puis leur structure dans l'espace, plus proche de la réalité.

4.1.1 Formule linéaire des oses : modèle de Fischer

Selon la représentation proposée par Emile Fischer, la structure d'une ose simple est linéaire. S'il existe une fonction aldéhyde, elle occupe une extrémité de la molécule. La numérotation des carbones commence alors par le carbone aldéhydique. S'il existe une fonction cétone, elle se trouve (dans les cétoses naturels) sur l'atome de carbone suivant immédiatement un carbone d'extrémité que l'on numérote par 1. Le carbone cétonique porte donc le numéro 2.



D-glucose (aldose)



D-fructose (cétose)

Configurations selon Fischer du D–glucose et du D–fructose.

A. Isomérie optique

À l'exception du dihydroxyacetone, tous les oses possèdent un pouvoir rotatoire du fait de la présence d'un carbone asymétrique, et sont dits *chiraux*.

Si n est le nombre d'atomes de carbone de la chaîne, le nombre d'atomes de carbone subsitués assymétriquement sera de :

- $(n-2)$ pour les aldoses ;
- $(n-3)$ pour les cétoses.

Le nombre d'isomères optiques sera de :

- 2^{n-2} pour les aldoses ;
- 2^{n-3} pour les cétoses.

B. Nomenclature D et L des oses

La nomenclature D et L des oses est une nomenclature relative et par filiation. Tous les sucres seront préfixés par les lettres D ou L en référence pour les aldoses à la configuration du *glycéraldéhyde* et pour les cétoses à la configuration du *cétotétrose*. Ce préfixe sera suivi de la nature du pouvoir rotatoire de la molécule (–) ou (+).

a. Aldoses

La nomenclature est définie par rapport à la position de l'hydroxyle porté par le carbone asymétrique voisin de la fonction alcool primaire en référence au glycéraldéhyde.

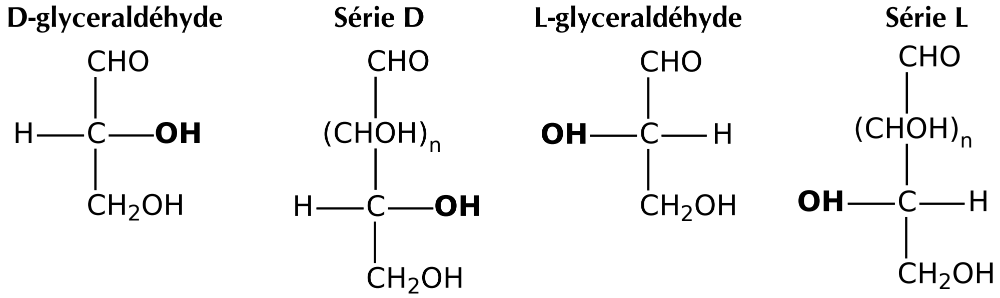


FIGURE 4.1 – Nomenclature D et L des aldoses.

b. Cétoses

La nomenclature est définie par rapport à la position de l'hydroxyle porté par le carbone asymétrique voisin de la fonction alcool primaire la plus éloignée de la fonction cétone en référence au *cétotétrose*.

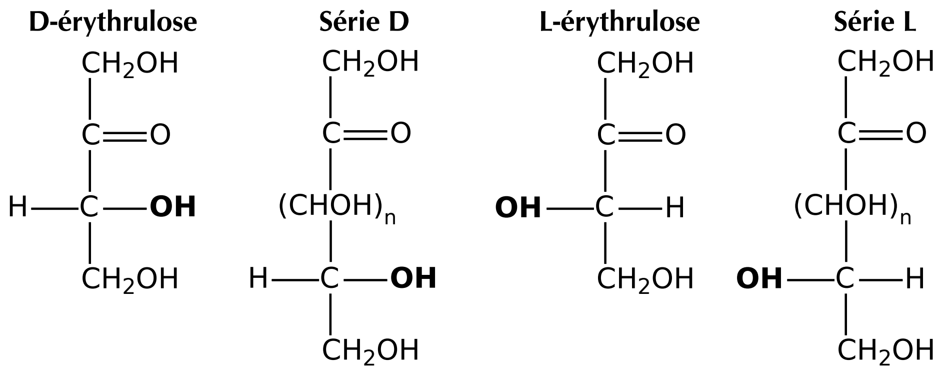


FIGURE 4.2 – Nomenclature D et L des cétoses.

- Dans la forme D, le groupement alcool (–OH) porté par le carbone $n-1$ est à droite (en représentation de Fischer) ;
- Dans la forme L, le groupement alcool (–OH) porté par le carbone $n-1$ est à gauche (en représentation de Fischer).

Ce type de structure linéaire n'est que rarement réalisé à l'état naturel car la structure de ces composés les conduit à former des cycles en milieu aqueux.

C. Filiation des oses

La chaîne carbonée est représentée par un trait vertical. Les traits horizontaux correspondent aux OH des carbones asymétriques.

Synthèse de KILIANI-FISCHER : il s'agit de l'ascension de la série des oses, c'est-à-dire la formation d'un ose à n carbones par extension du squelette d'un ose à $n-1$ carbones.

Dégradation de WOHL-ZEMPLEN : il s'agit de la descente de la série des oses.

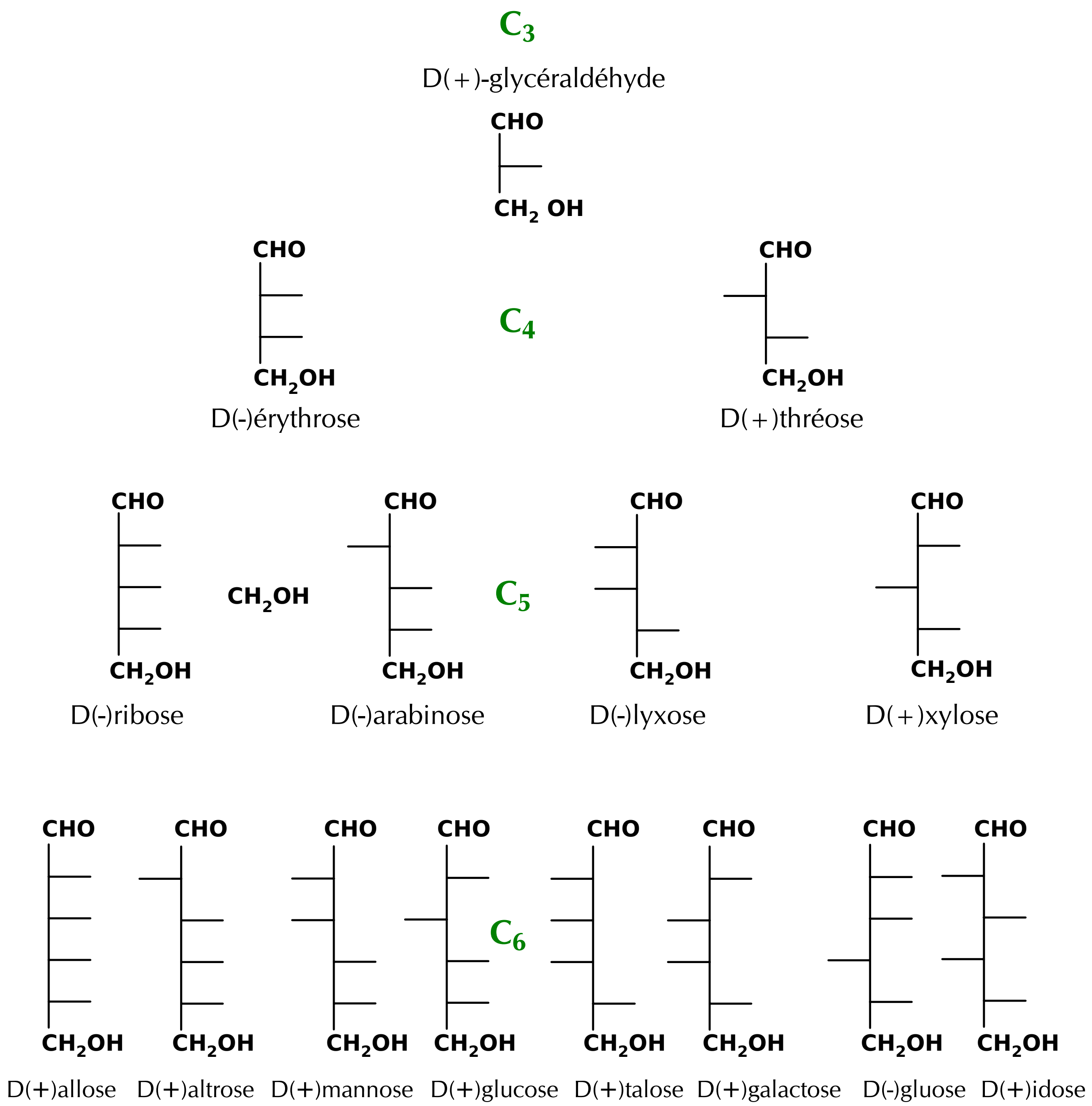


FIGURE 4.3 – Filiation des D-Aldoses comportant 3 à 6 carbones

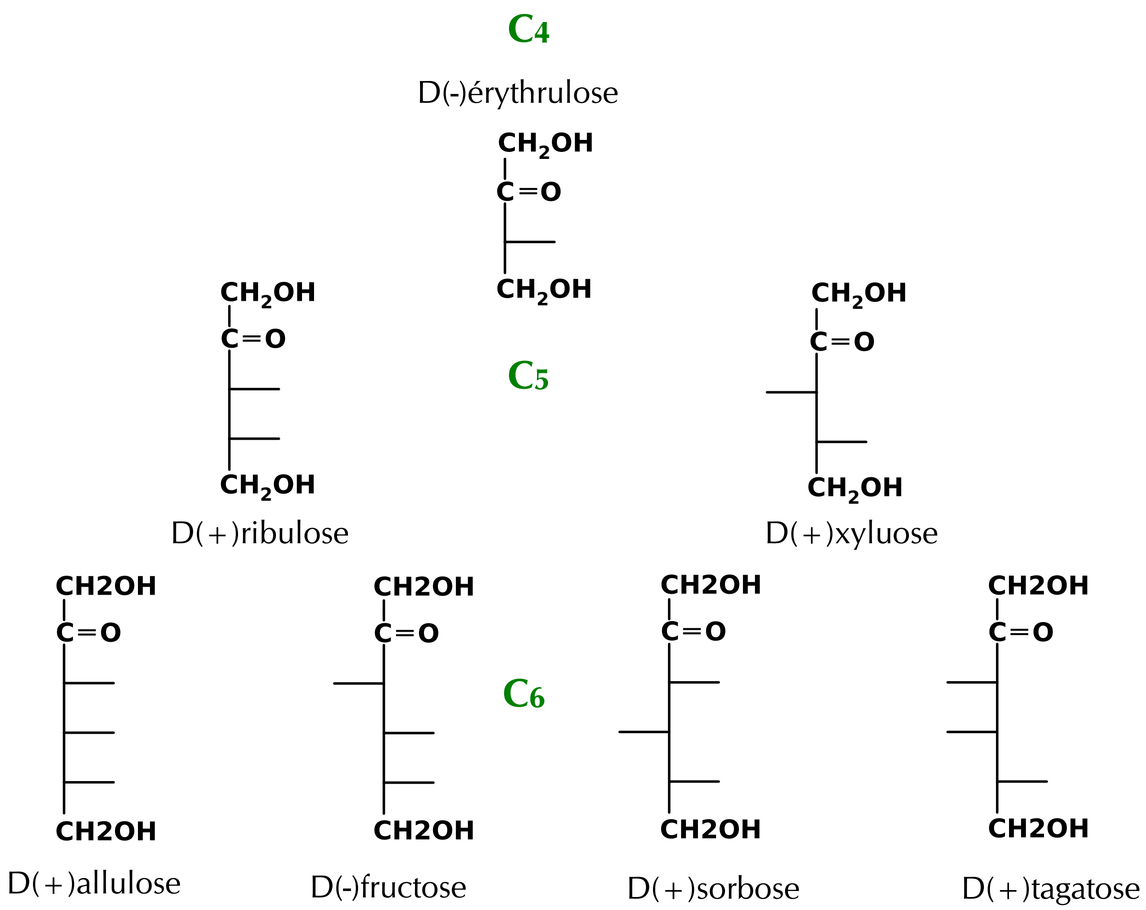


FIGURE 4.4 – Filiation des D-Cétoses comportant 3 à 6 carbones

4.1.2 Formule cyclique des oses : modèle de HAWORTH

A. Cyclisation des oses

Dans le cas des formules cycliques d'oses, il y a dans le cycle un atome d'oxygène, qu'on appelle parfois « pont oxygéné ». La cyclisation est réalisée par réaction de la fonction aldhéhyde ou cétone avec une fonction alcool portée par la même molécule. Il se forme ainsi un *hémiacétal cyclique*.

On appelle *hémiacétal* le produit de la condensation d'un aldéhyde ou d'une cétone avec un alcool (**figure 4.5**).

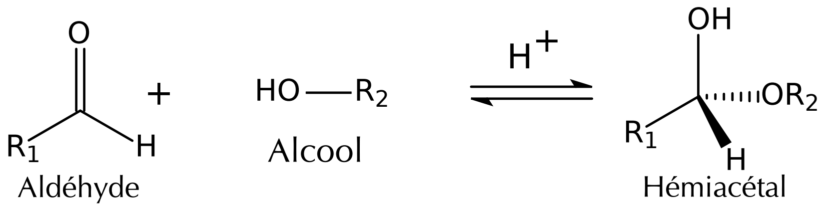


FIGURE 4.5 – Formation d'un hémiacetals.

Pour comprendre la cyclisation des oses simples, nous allons prendre l'exemple de la molécule de glucose. Ecrivons la formule d'une molécule de glucose sous la forme linéaire, mais en rapprochant le carbone aldéhhydique C_1 et la fonction alcool en C_5 (**figure 4.6**). On voit que la cyclisation sous forme d'un hémiacetal de glucose résulte de cette interaction.

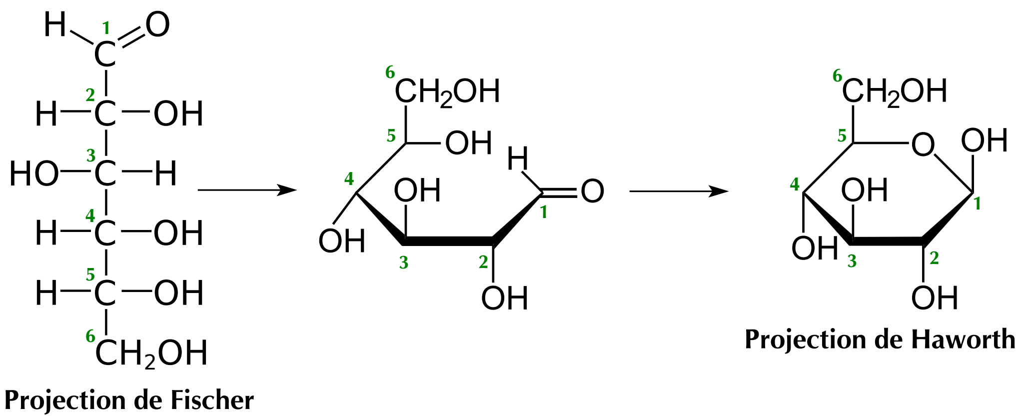


FIGURE 4.6 – Cylisation du glucose sous forme pyranique.

Une autre cyclisation est possible par interaction entre le carbone aldhéhydique et la fonction alcool en 4.

Cycle pyranique : quand le cycle résultant comporte 6 sommets, il est hexagonal et porte le nom de *cycle pyranique* par homologie avec le noyau organique appelé *pyrane*. On dit dans ce cas que l'ose est un *pyranose*.

Cycle furanique : quand le cycle est pentagonal, il est appelé *furanique* par homologie avec le noyau *furane*. L'ose est alors appelée furanose.

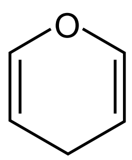


FIGURE 4.7 – Noyau pyrane.

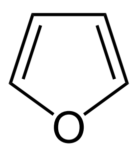


FIGURE 4.8 – Noyau furane.

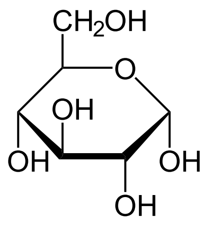


FIGURE 4.9 – α-D-Glucopyranose.

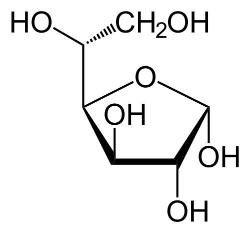


FIGURE 4.10 – α-D-Glucofuranose.

Pour reconnaître le carbone 1, on remarquera qu'il porte à la fois un groupement OH (hydroxyle) et le pont oxygéné. Il faut bien voir que l'autre atome de carbone auquel aboutit le pont oxygéné, ne porte pas de OH puisque celui-ci a été utilisé pour former le pont hémiacétalique.

La cyclisation des cétoses s'opère de la même façon, comme on peut le voir sur la structure du fructose.

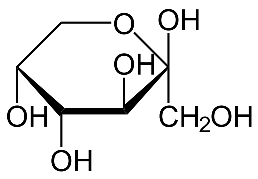


FIGURE 4.11 – β-D-Fructopyranose.

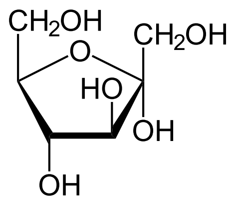


FIGURE 4.12 – α-D-Fructofuranose.

B. Perspective de HAWORTH

La représentation graphique de HAWORTH, aussi appelée représentation plane, facilite la représentation des diverses formes cycliques. Elle symbolise les cycles par des polygones plans vus en perspective (un renforcement du trait est censé montrer les liaisons proches de l'observateur).

Le carbone le plus oxydé est positionné à l'extrémité droite. La position des groupements hydroxyle est fonction de leur position dans la représentation de Fisher. Les H et OH se trouvant à droite dans la représentation de Fisher se retrouveront au-dessous du plan du cycle.

Nomenclature D et L Dans la représentation de Haworth, c'est la position par rapport au plan de la feuille de la fonction alcool primaire qui déterminera la série :

Série D : $-CH_2OH$ au-dessus du plan du cycle ;

Série L : $-CH_2OH$ au-dessous du plan.

Un cas particulier est celui du glucose écrit selon sa formule furanique, dans lequel le carbone 5 n'est pas inclus dans le cycle. Compte-tenu de la disposition des schémas (**figure 4.10**), tout se passe comme si la formule était écrite de bas en haut, et par conséquent l'hydroxyle en 5 est dirigé vers la gauche dans le cas des oses de la série D.

C. Stabiltié des cycles

La stabilité des cycles des oses dépend de l'ose considéré. Généralement, les pyranoses sont plus stables, donc plus souvent représentés, que les furanoses, car ils permettent un meilleur décalage des gros substituants du cycle sur deux carbones consécutifs (**tableau 4.1 page 79**).

D. Anomérie

La position dans l'espace de l'hydroxyle placé sur le *carbone hémiacétalique*, doit être précisée : elle détermine elle aussi deux isomères, car ce carbone n'était pas assymétrique dans les formules aliphatiques mais il l'est devenu dans les formules cycliques.

L'isomérie introduite par l'existance de 2 positions du OH en 1 est appelée *anomérie*.Les anomères ont un pouvoir rotatoire *différent*, ils sont distingués par les lettres α et β. La forme est α si le groupement hydroxyle (–OH) anomérique et le groupement $\mathrm{CH_2OH}$ terminal sont de part et d'autre du cycle, et β s'ils sont du même côté.

Équilibre entre formes anomères En solution dans l'eau, les deux formes anomères α et β du glucose sont en équilibre permanent. Il existe à tout instant des transformations réversibles entre la forme aliphatique et les deux formes cycliques, selon le schéma réactionnel suivant (**figure 4.13**).

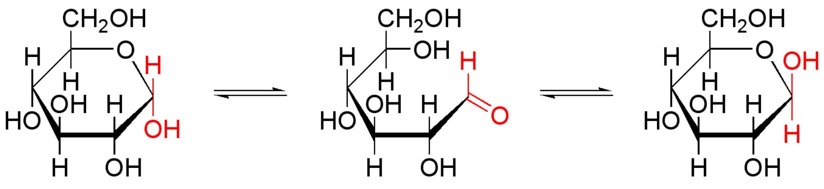


FIGURE 4.13 – Equilibre entre formes α, β et aliphatique du glucose.

En réalité, la forme aliphatique se trouve toujours en très faibles quantités (traces). La forme β, qui est la plus stable, atteint une proportion de 64% et la forme α de 36%.

Mutarotation La mutarotation est l'évolution du pouvoir rotatoire d'une solution d'une forme pure vers le pouvoir rotatoire de la solution du mélange α et β à l'équilibre thermodynamique.

4.1.3 Conformation spatiale des oses

La formule plane de HAWORTH suffit à l'écriture des formules des oses dans certaines situations, comme par exemple la description d'une réaction. Mais elle devient vite insuffisante dès qu'il s'agit de décrire les molécules dans l'espace.

A. Les plans déterminés par les cycles saturés

Les cycles à 6 sommets ne peuvent pas être contenus dans un seul plan, compte tenu de la valeur fixe des angles de valence du carbone 109°28'. Il existe un gauchissement de la molécule par rapport au plan des 4 sommets médians ABCD (**figure 4.14**). Les deux autres sommets E et F peuvent être situés de part et d'autre de ce plan : c'est ce que l'on appelle de façon imagée la **forme chaise**, ou bien ils sont du même côté et on a la **forme bateau**.

On a eu l'idée d'inscrire la figure hexagonale, en forme chaise ou bateau, dans une sphère afin d'établir des points de repères. Les 4 points ABCD se trouvent dans le *plan équatorial*, défini par analogie avec le plan passant par l'équateur du globe terrestre. La droite (XY) qui lui est perpendiculaire et passe par le centre de la sphère, est appelée *axe*. Toutes les droites parallèles à cet axe définissent les *directions axiales*.

Il y a 2 valences disponibles par sommet carboné : l'une fournit une liaison qui se dispose selon une direction grossièrement parallèle à celle de l'axe (à 30% près). Le substituant correspondant est dit *axial*. L'autre substituant dont la liaison est disposée approximativement selon une direction parallèle à celle du plan équatorial, est dit substituant *équatorial* **[43]**.

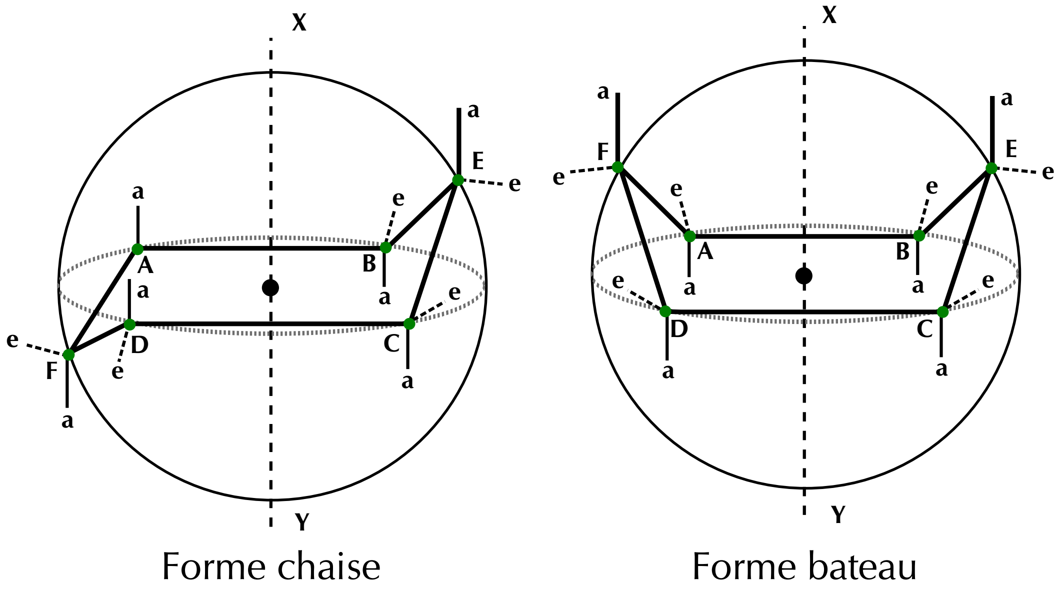


FIGURE 4.14 – Formes chaise et bateau.
a : substituant axial ; e : substituant équatorial.
D'après le livre « Biochimie dynamique© ».

B. Structure des oses dans l'espace

a. Cycle pyrane

Un cycle pyranique pourra donc se présenter sous 2 formes principales : forme chaise et bateau.

La conformation la plus stable est la forme chaise et celle-ci sera d'autant plus stable que les substituants encombrants des carbones asymétriques seront en positions équatoriales **[44]**.

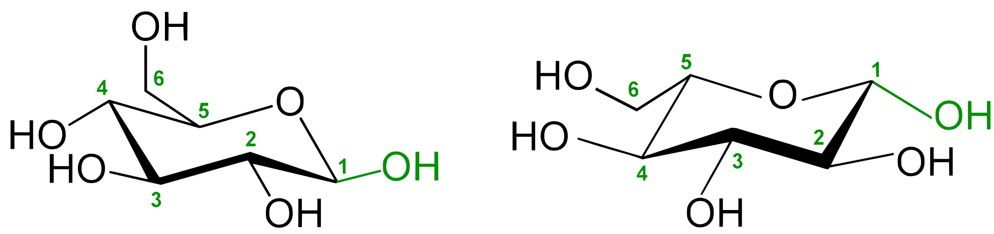
Formes C1 / 1C Il peut exister deux conformations chaises (**figure 4.15**) **[45]** :

- la forme chaise $^4C_1$ (plus souvent appelée C1) est la conformation la plus probable du D-glucopyranose ;
- la forme chaise $^1C_4$ (plus souvent appelée 1C) est celle du L-glucopyranose ;

L'exposant devant le C identifie le carbone situé au dessus du plan moyen du cycle dans la représentation de spaciale, et l'indice qui suit le C identifie le carbone situé au dessous.

Les conformations chaises du D- et du L-glucopyranose sont inversées l'une par rapport à l'autre, de manière à placer, dans chaque cas, les gros substituants en position équatoriale.

Nous n'insisterons pas davantage sur ces propriétés complexes, car elles ne servent pas à la compréhension de fonctions biologiques de oses.



β-D-glucopyranose Chaise $^4C_1$ **β-L-glucopyranose** Chaise $^1C_4$

FIGURE 4.15 – Formes C1/1c du glucopyranose.
Wikipédia, domaine public.

b. Cycle furane

Les cycles furaniques ne sont pas planaires : la forme la plus probable est une forme à 4 atomes coplanaires et le 5e en dehors donnant à la conformation une forme d'enveloppe (E) **[44]**.

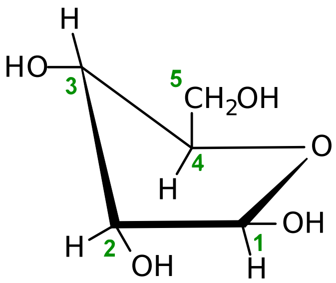


FIGURE 4.16 – Conformation 3E du β-D-ribose.

4.1.4 Propriétés physiques des oses simples

A. Masse moléculaire

La masse moléculaire d'un pentose est de 150, celle d'un hexose 180. Elle est la même pour tous les hexoses y compris les cétoses puisqu'ils sont isomères.

B. Solubilité

Les oses sont très solubles dans l'eau, leurs fonctions hydroxyles forment des liaisons hydrogènes avec l'eau.

4.1.5 Propriétés chimiques des oses simples

A. Stabilité

En milieu acide : les oses sont stables en milieu acide dilué. En milieu acide concentré et à chaud, les oses sont déshydratés en *furfural*.

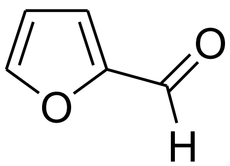


FIGURE 4.17 – Structure du furfural.

Les furfurals peuvent réagir pour donner des produits dont la coloration est caractéristique de l'ose initial.

Le résorcinol : donne en milieu acide et à chaud, avec les cétoses une coloration rouge.

L'orcinol : donne avec les pentoses une coloration bleu-violet.

En milieu alcalin : Les solutions alcalines diluées, à température ambiante, produisent des isomérisations au niveau du carbone anomérique et du carbone voisin, sans modifier le reste de la chaîne. On aura soit une *inter-conversion* d'un aldose en un cétose correspondant (ou l'inverse), soit une épimérisation.

B. Réduction des oses

Les aldoses et les cétoses sont susceptibles de réduction catalytique sur leur groupement carbonyle en donnant des polyalcools. Ceci peut se faire par :

– voie chimique par les borohydrures alcalins ;
– hydrogénation catalytique (noir de platine, Nickel de Raney...) ;
– voie enzymatique.

C. Oxydation ménagée

La fonction aldéhydique est la plus facilement oxydable. L'iode en milieu basique la transforme en fonction acide : l'ose est transformée en *acide aldonique*. Dans le cas du glucose l'acide formé est l'acide gluconique.

En oxydant l'ose, l'iode est réduit. Les oses simples et les diholosides ayant un carbone hémiacétalique libre sont réducteurs de par leur fonction aldéhyde.

D. Oxydation plus intense

L'oxydation plus poussée des aldoses transforme la fonction carbonyle et et la fonction alcool primaire en fonctions carboxiliques. On obtient un diacide appelé *acide glycarique ou aldarique*.

Si la fonction carbonyle est au préalable protégée (par combinaison à l'UDP, l'uridine diphosphate) seul la fonction alcool primaire est oxydée. On obtient des *acides uroniques*.

E. Action des alcools

Le groupement hydroxyle du carbone anomérique réagit facilement avec le méthanol en milieu acide, formant des *méthyl-osides*. Dans le cas du glucose, il existe un α-méthylglucoside et un β-méthylglucoside.

F. Action des amines et de l'amoniaque

Les oses peuvent réagir avec des amines. Il se forme alors des N-glycosamines ou N-glycosides.

G. Estérification

L'estérification des fonctions alcool par l'acide phosphorique forme des esters phosphoriques d'une grande importance biologique.

H. Action de la phénylhydrazine

Une fonction aldéhyde ou cétone peut réagir à froid sur la phénylhydrazine pour donner par une réaction de condensation une *phénylhydrazone*.

En faisant réagir à chaud, les phénylhydrazones des oses avec un excès de phénylhydrazine, on constate que par des réactions complexes une des molécules va oxyder la fonction alcool portée par le carbone 2 pour les phénylhydrazones des aldoses ou par le carbone 1 des phénylhydrazones des cétoses, pour donner une fonction aldéhyde pour les cétoses et une fonction cétone pour les aldoses. La troisième molécule de phénylhydrazine va réagir alors sur la fonction carbonyle formée pour donner une deuxième fonction phénylhydrazone. L'ensemble de la molécule ainsi formée s'appelle une *osazone*.

Grâce à leurs constantes physiques (fusion, solubilité, types de cristaux), les osazones permettent l'identification des oses.

On constate que les ozasones du D-glucose et du D-fructose sont les mêmes ; il en est de même pour l'osazone du D-mannose.

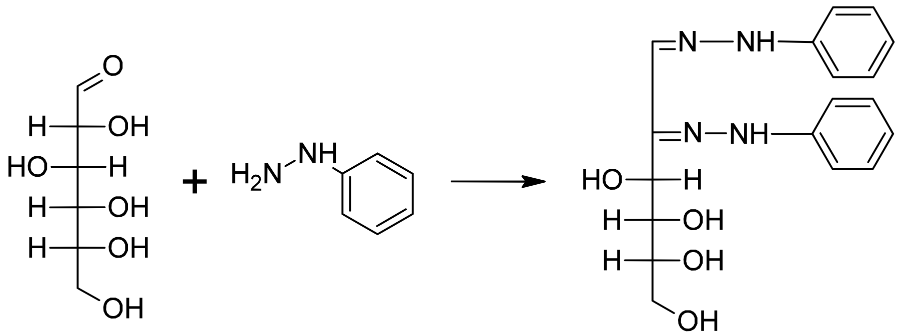


FIGURE 4.18 – Réactions de formation d'une ozazone.

4.1.6 Les dérivés des oses simples

A. Désoxyoses

On appelle ainsi des oses dans lesquels un OH est remplacé par un H. C'est le cas du désoxyribose que nous rencontrons dans la constitution de l'acide désoxyribonucléique (ADN).

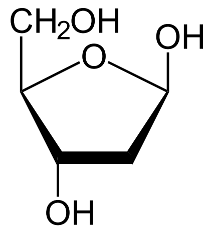


FIGURE 4.19 – Structure du 2-désoxyribose.

B. Osamines

Les oses aminés sont des oses simples sur lesquels une fonction amine remplace une fonction hydroxyle. Seules les hexosamines qui dérivent des principaux hexoses par substitution du OH porté par le C_2, ont un intérêt biologique. C'est le cas du glucosamine, galactosamine et de la mannosamine.

C. Dérivés N-acétylés des osamines

À l'état naturel, les osamines sont presque toujours acétylées sur la fonction amine, ce qui forme le N-acétyl-glucosamine par exemple.

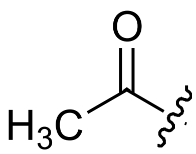


FIGURE 4.20 – Radical acétyl.

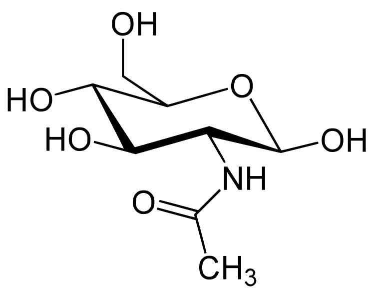


FIGURE 4.21 – Structure du N-Acetyl-D-Glucosamine.

La lettre N est indiquée pour montrer que le radical acétyl est fixé sur l'azote de la fonction amine de l'osamine. On ne trouve jamais ces composés à l'état libre, mais incorporés à de grosses molécules comme des glycolipides, des glycoprotéines...

D. Acides dérivés des oses

Acides aldoniques Ce sont les dérivés d'oxydation de la fonction aldéhyde des aldoses. Ils interviennent dans certaines voies du métabolisme des oses.

Acides uroniques Ils se forment par oxydation de la fonction alcool primaire des aldoses, à condition que la fonction carbonyle soit protégée. Les acides uroniques peuvent se complexer avec des molécules toxiques pour l'organisme et permettre leur élimination ; cette association forme des urono-conjugués.

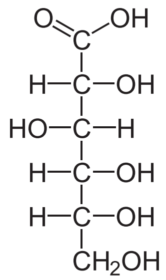


FIGURE 4.22 – Acie D-gluconique.

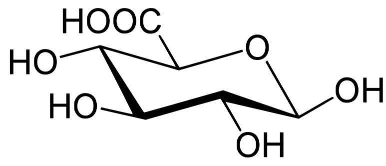


FIGURE 4.23 – Acide β-D-glucuronique.

4.1.7 Oses d'intérêt biologique

Hormis de rares exceptions, les oses naturels et leurs dérivés sont de la série D.

A. Trioses

Les formes D et L du glycéraldéhyde sont présentes dans la nature. Les formes les plus importantes des trioses sont des dérivés phosphorylés que l'on trouve dans les premières étapes de la glycolyse (catabolisme oxydatif).

B. Tétroses

Le seul tétrose d'intérêt est l'aldose D(-)érythrose. il s'agit d'un intermédiaire de la voie des pentoses phosphates.

C. Pentoses

L-arabinose : c'est l'un des rares sucres naturels de la série L. On le trouve dans toutes les plantes, on trouve aussi le D-arabinose. Non métabolisé par l'homme, il est éliminé directement dans les urines.

D-ribose : son dérivé de réduction le D-2-désoxyribose entrent dans la composition des acides ribonucléiques et désoxyribonucléiques (ARN et ADN).

D-ribulose : ce cétopentose est trouvé à l'état de ribulose-1,5-diphosphate qui est un élément fondamental dans le « cycle des pentoses » et des réactions de photosynthèse.

D. Hexoses

Les hexoses importants, isomères de la série D, sont le glucose, deux de ses épimères le galactose et le mannose ainsi qu'un cétose, le fructose et des dérivés aminés.

D(+)glucose : c'est la molécule carburant du monde vivant et par là le prototype des études de structure et propriétés des oses. Il est abondant à l'état libre dans le miel, les fruits. Il est hydrosoluble dans les liquides biologiques. Sous forme polymérisée à partir de l'α-D-glucopyranose, il constitue les réserves énergétiques (amidon végétal, glycogène animal) de la plupart des organismes supérieurs.

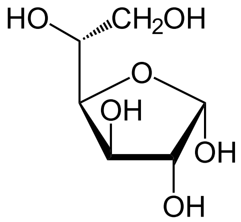
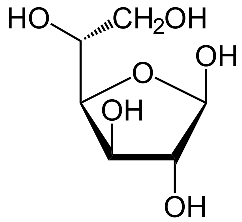
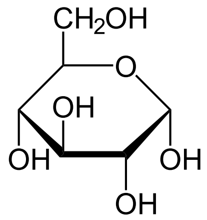
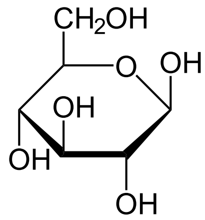
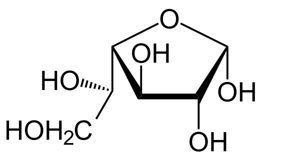
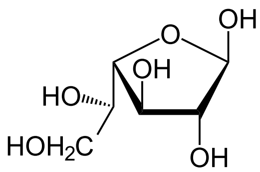
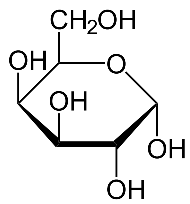
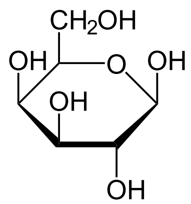
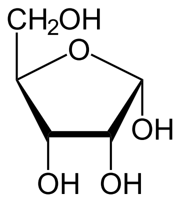
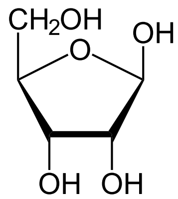
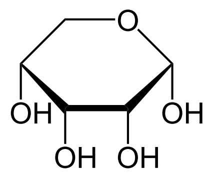
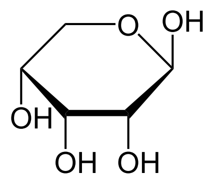
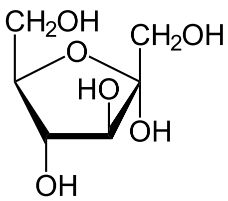
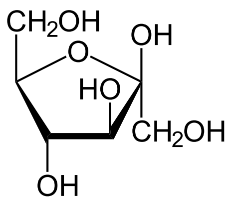
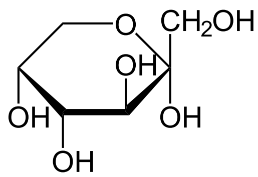
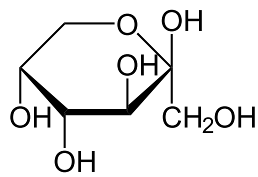
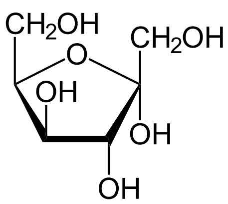
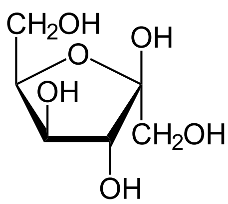
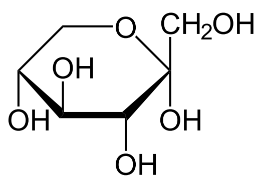
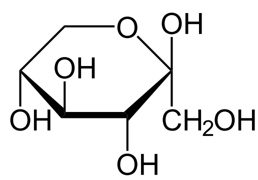
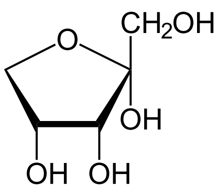
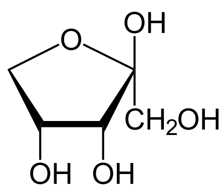
Le polymère formé à partir de l'anomère β donne un polyoside aux propriétés physiques et biologiques radicalement différentes des polymères α : la cellulose.

D(+)galactose : le plus répandu après le glucose, il entre dans la constitution du lactose du lait des mammifères. On le trouve combiné dans certains oligosides, hétérosides et glycoprotéines.

D(+)mannose : peu abondant à l'état libre si ce n'est dans l'écorce d'orange, il entre dans la constitution de polymères tels les mannanes, ou encore de glycoprotéines.

D(-)fructose : c'est l'un des rares sucres cétoniques naturels, on le trouve à l'état naturel dans les fruits et le miel auquel il donne sa consistance à cause de sa cristallisation difficile. Il entre dans la composition du saccharose.

TABLE 4.1 – Isomères cycliques de certains oses ainsi que leurs taux de présence relative dans l'eau.

Ose	Isomères cycliques			
Glucose	 α-D-Glucofuranose <0,5%	 β-D-Glucofuranose <0,5%	 α-D-Glucopyranose 35 %	 β-D-Glucopyranose 65 %
Galactose	 α-D-Galactofuranose 2,5%	 β-D-Galactofuranose 3,5%	 α-D-Galactopyranose 30 %	 β-D-Galactopyranose 64 %
Ribose	 α-D-Ribofuranose 6,5%	 β-D-Ribofuranose 13,5%	 α-D-Ribopyranose 21,5 %	 β-D-Glucopyranose 58,5 %
Fructose	 α-D-Fructofuranose 5%	 β-D-Fructofuranose 20%	 α-D-Fructopyranose 2 %	 β-D-Fructopyranose 73 %
Sorbose	 α-D-Sorbofuranose 2 %	 β-D-Sorbofuranose	 α-D-Sorbopyranose 98 %	 β-D-Sorbopyranose
Ribulose	 α-D-Ribulofuranose	 β-D-Ribulofuranose		

4.2 Les holosides

Un holoside est polymère composé exclusivement d'oses, liés entre eux par des *liaisons O-osidiques* ou *glycosidiques*.

Liaison O-osidique : la liaison O-osidique est une liaison chimique covalente entre :

1. le groupement hydroxyle de la fonction alcool du carbone anomérique d'un ose (carbone anomère, numéro 1 chez les Aldose et numéro 2 des Cétose) ;
2. le groupement hydroxyle d'un autre os.

La formation de la liaison produit de l'eau.

Résidu d'ose : chaque ose participant à l'oside ne s'y trouve plus en totalité mais a perdu soit un H, soit un OH. On dit qu'il s'aigt d'un *résidu d'ose*.

4.2.1 Classification

Parmi les holosides, on distingue trois familles :

Diholosides : qui sont composés de seulement deux oses et dont le degré de polymérisation est égal à 2 ;

Oligoholosides : (triholosides, tétraholosides, etc.) qui ont un degré de polymérisation compris entre 3 et 10 ;

Polyosides : dont le degré de polymérisation est supérieur à 10.

Selon la nature des oses constituant l'holoside, on distingue :

Holoside homogène : holoside dont les résidus d'oses sont tous identiques.

Holoside hétérogène : holoside qui renferme des résidus d'oses de deux ou plusieurs types différents.

4.2.2 Propriétés physiques

Les osides sont solubles dans l'eau. On peut les obtenir sous forme cristallisée. Les cristaux de saccharose (sucre raffinée) sont bien connus pour leur utilisation alimentaire.

4.2.3 Propriétés chimiques

A. Pouvoir réducteur

On se souvient que les oses simples sont des réducteurs. C'est une propriété de la fonction hémiacétalique libre. Lorsque cette fonction est bloquée par la présence d'un pont osidique, elle perd son caractère réducteur.

B. Hydrolyse

In vitro, l'hydrolyse des osides, catalysée par les ions H^+, libère les oses simples constitutifs.
In vivo, l'hydrolyse des osides est réalisée par des enzymes spécifiques, les *osidases*.

4.2.4 Étude des diholosides

Pour décrire la structure d'un diholoside, il faut d'abord indiquer la nature des oses qui le constituent (glucose, galactose, mannose, etc.), leur série D ou L (seuls les oses de la série D sont présents dans les holosides naturels), la nature de leur cycle (pyrane ou furane), le numéro des carbones sur lesquels est fixé le pont oxygéné. Il faut également indiquer la configuration de ce pont (α ou β) sur le carbone anomérique.

A. Identification des résidus d'oses

Le diholoside à étudier est soumis à une hydrolyse acide, la liaison osidique sera rompue et les oses constitutifs libérés. Afin des les séparer , on peut soumettre l'hydrolysat à une *chromatographie de partage*.

L'identification peut se faire à partir de la plaque chromatographique (lecture du R_f, utilisations de témoins connus) ou en extrayant chaque ose et analyser son pouvoir rotatoire ou utiliser des réactions enzymatiques spécifiques.

B. Identification du mode de liaison

Deux cas de figures sont possibles :

a. Le diholoside n'est pas réducteur

Si le diholoside n'est pas réducteur, la liaison osidique est établie entre les carbones anomériques dedeux oses.

b. Le diholoside est réducteur

La fonction hémiacétalique de l'un deux deux oses est libre. L'objectif est d'identifier l'ose possédant le carbone anomérique libre et de déterminer l'hydroxyle engagé par cet ose dans la liaison osidique.

Identification de l'ose réducteur : l'oxydation ménagée du diholoside par l'iode en milieu alcalin transforme le groupement carbonyle libre en un groupement carboxylique. Une fois hydrolysé, le diholoside libère un ose et un acide aldonique correspondant à l'ose réducteur.

Détermination de l'hydroxyle engagé dans la liaison osidique : la liaison osidique ne peut ni implique le C_1, ni le C_5 (pont oxygéné) de l'ose réducteur. Divers méthodes permettent de déterminer l'hydroxyle engagé dans la liaison osidique. En général, il s'agit de l'hydroxyle du C_4 ou du C_6

C. Configuration anomérique de la liaison osidique

On se souvient que le carbone anomérique d'un ose peut passer de la forme α à β et vis-versa. Dans un oside, la configuration d'un pont osidique est bloquée en α ou β, elle ne peut pas changer.

Afin déterminer l'anomérie de la liaison osidique, il est possible d'utiliser une méthode chimique ou une méthode enzymatique basée sur la spécificité enzymatique : en ajoutant des α-osidases ou des β-osidases, la liaison ne sera rompue que par l'enzyme correspondante.

D. Nomenclature

Le nom systématique des holosides est établie en considérant que l'ose qui réagit par sa fonction hémiacétalique (x) est un substituant de l'une des fonctions alcool de l'autre ose (y).

[anomérie-série-x. . . **osyl** (1 → n)] y. . . **ose**
[anomérie-série-x. . . **osyl** (1 → 1)] y. . . **oside**

Pour les cétoses le carbone anomérique est en position 2, il suffit d'adapter cette formule générique et pour le cétose, remplacer 1 par 2.

Pour simplifier les écritures de polysaccharides, des écritures condensées conventionnelles ont été définies :

Glc	Glucose	Gal	Galactose
Man	Mannose	Fru	Fructose
Fuc	Fucose	Rha	Rhamnose
GlcN	Glucosamine	GlcNac	N-acétylglucosamine
GalN	Galactosamine	GalNac	N-acétylgalactosamine
NeuAc	Acide-N-acétylneuraminique	GlcUA	Acide glucuronique

E. Structure des principaux holosides

a. Saccharose Le saccharose (sucre de table ou sucre blanc) est un sucre au goût très doux et agréable, très largement utilisé pour l'alimentation, extrait de certaines plantes, principalement de la canne à sucre et de la betterave sucrière, et transformé en de petits cristaux blancs.

Ce glucide non réducteur de la catégorie des diholosides est formé par la condensation de 2 oses : une molécule de *α-D-glucose* et une molécule de *β-D-fructose*.

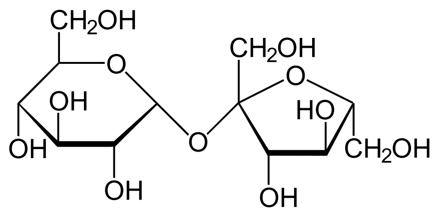


FIGURE 4.24 – α-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-fructofuranoside.

b. Lactose Le lactose est le principal sucre du lait. C'est un diholoside constitué par deux oses différents : le *β-D-galactose* et le *α/β-D-glucose*.

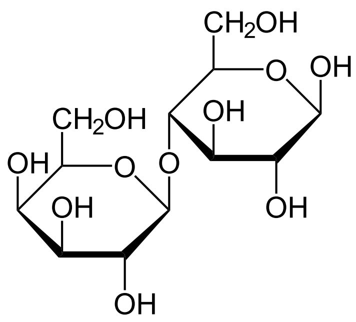


FIGURE 4.25 – β-D-galactopyrannosyl (1→4)D-glucopyrannose

c. Maltose Le maltose est diholoside constitué par deux oses identiques, deux glucoses sous forme pyranique. La fonction hémiacétalique du glucose de droite reste libre, en position α ou β selon les cas.

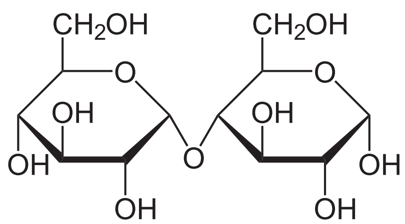


FIGURE 4.26 – α-D-glucopyranosyl(1→4)D-glucopyranose

d. Cellubiose Le cellobiose est l'unité de base de la cellulose. Il s'agit d'un diholoside constitué de deux oses identiques, deux glucoses sous forme pyranique. Il ne diffère du maltose que par la configuration anomérique.

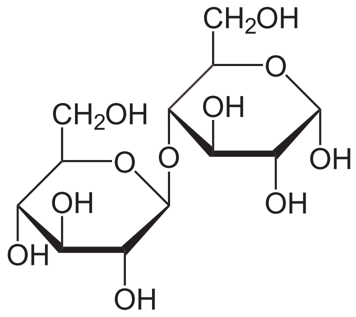


FIGURE 4.27 – β-D-glucopyranosyl-(1→4)-D-glucopyranose

e. Raffinose Le raffinose est un triholoside réducteur composé d'une unité de α-D-galactose, d'une unité de α-D-glucose et une unité β-D-fructose. Ou plus simplement c'est une unité de α-D-galactose attachée à une unité de saccharose par son glucose. Il est présent dans la betterave, et est éliminé lors du raffinage du sucre.

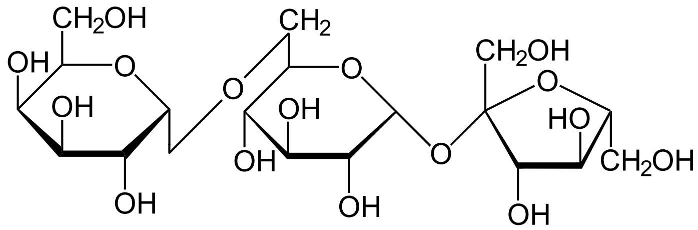


FIGURE 4.28 – α-D-galactopyrannosyl-(1→6)-α-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-fructofuranose.

4.2.5 Étude des polyosides

A. L'amidon

L'amidon est le polyoside de réserve énergétique pour les végétaux supérieurs et un constituant essentiel de l'alimentation humaine. On le retrouve dans des grains d'amidon des organes de réserve comme le tubercule de pommes de terre, le grain de blé, les graines de légumineuses (haricot, pois, lentille, etc.).

L'amidon n'est pas un corps pur, c'est un mélange de deux polyosides dont les structures sont légèrement différentes : l'*amylose* et l'*amylopectine*. Dans l'amidon de pommes de terre, par exemple, il y a 20% d'amylose et 80% d'amylopectine **[46]**.

a. L'amylose

L'amylose résulte d'un enchaînement linéaire d'unités d'α-D-glucose unies par des liaisons osidiques α(1→4). L'indice de polymérisation n, c'est-à-dire le nombre d'unités de glucose réunies dans chaque chaîne dépasse la centaine (**figure 4.29**).

L'amylose est un polyoside linéaire : il n'a pas de branchements. La longue chaîne prend dans l'espace une structure en hélice contenant 6 résidus de glucose par tour (**figure 4.30**).

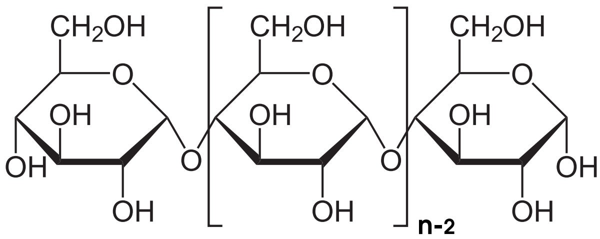


FIGURE 4.29 – Enchaînement linéaire d'amylose.

On a l'habitude d'écrire la formule de gauche à droite. À l'extrémité gauche se trouve un résidu de lgucose dont la fonction hémiacétalique est bloqué par le résidu suivant. Au contraire, à l'extrémité droite, il existe sur le dernier résidu de glucose une fonction hémiacétalique libre.

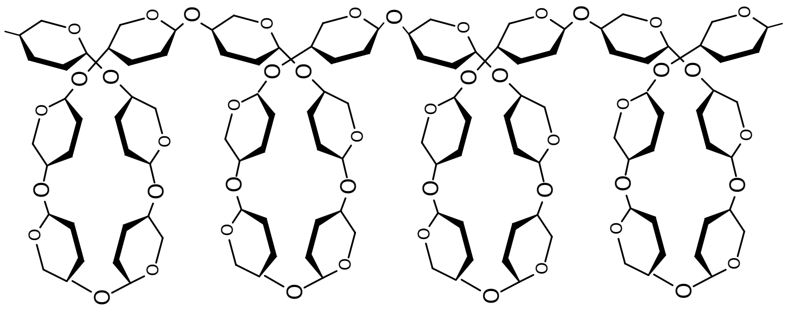


FIGURE 4.30 – Disposition en hélice de la chaîne d'amylose.

b. L'amylopectine

L'amylopectine est le second polyoside constituant l'amidon. Il diffère de l'amylose par la présence de nombreux branchements.

Les glucoses sont liés de manière linéaire par des liaisons alpha α-(1$\rightarrow$4) et les ramifications apparaissent avec une liaison α-(1$\rightarrow$6) tous les 24 à 30 résidus. L'amylopectine a donc la forme d'un « buisson ».

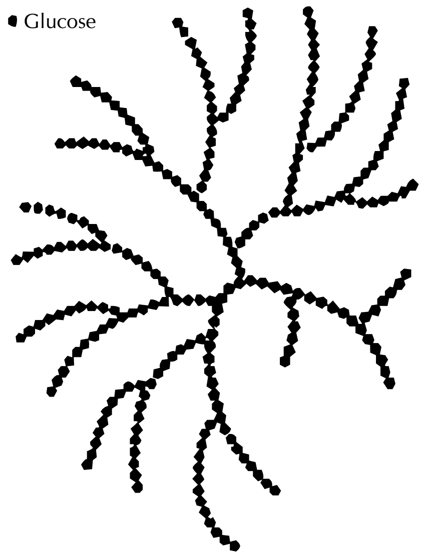


FIGURE 4.31 – Structure en buisson de l'amylopectine.

B. Le glycogène

Le glycogène est le polyoside de réserve des cellules animales. Il est particulièrement abondant dans les hépatocytes et les myocytes.

Le glycogène, comme l'amylopectine, est un polymère de résidus D-glucose avec des liaisons α-(1→4) et des liaisons α-(1→6) à l'origine de ramifications, mais ces dernières y sont plus nombreuses, une tous les 8 à 12 résidus.

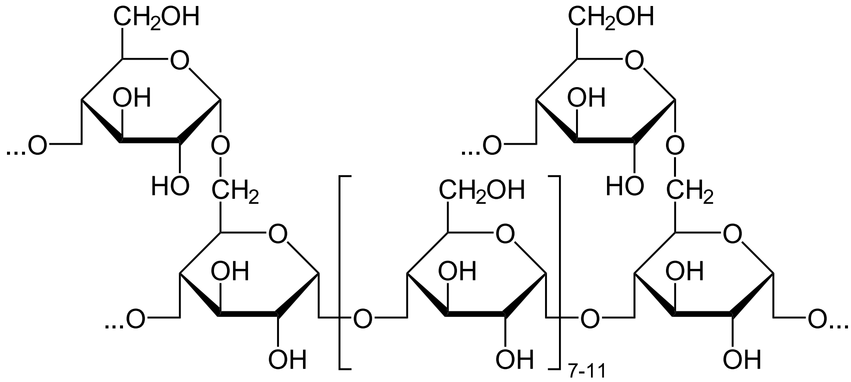


FIGURE 4.32 – Structure du glycogène.

C. La cellulose

La cellulose, principal biopolymère de structure des végétaux, est l'un des composés organiques les plus abondants de la biosphère.

C'est un polyoside non ramifié constitué de résidus de D-glucose unis exclusivement par des liaisons β-(1→4). Comme dans le cellobiose, la configuration β permet aux structures chaise de tourner librement et d'adopter, pour une rotation de 180° les unes par rapport aux autres, la conformation la plus stable qui conduit à la constitution de très longues chaînes (**figure 4.33**). Ces dernières sont susceptibles de contracter entre elles des liaisons hydrogène et de former alors des fibres très résistantes à l'étirement **[47]**.

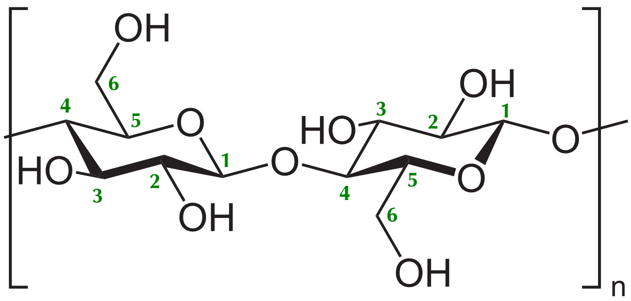


FIGURE 4.33 – Structure de la cellulose.

Le degré de polymérisation n diffère énormément selon l'origine de la cellulose ; sa valeur peut varier de quelques centaines à quelques dizaines de milliers.

Chapitre

A

Dans ce chapitre

Principales techniques utilisées en biochimie

A.1 Électrophorèse

L'électrophorèse est une technique de séparation basée sur le déplacement de molécules chargées placées dans un champ électrique. Le champ électrique est obtenu par un générateur de courant continu dont les bornes sont reliées à la cathode et à l'anode.

Il existe plusieurs techniques mais la plus fréquente est celle qui utilise un support constitué d'acétate de cellulose imbibé d'une solution tampon dite tampon de migration électrophorétique dont le pH (l'acidité) est déterminé à l'avance. On y dépose une goutte du mélange d'acides aminés obtenu précédemment. Les molécules anioniques (-) migrent vers l'anode (+) et les molécules cationiques (+) se déplacent vers la cathode (-). Du fait de leurs caractéristiques propres et en fonction des conditions de l'électrophorèse ces ions auront des vitesses de migration différentes, ils vont donc se séparer les uns des autres.

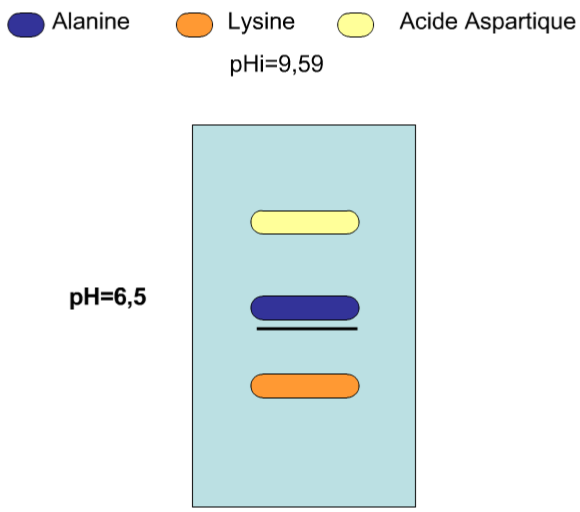


FIGURE A.1 – Exemple d'un électrophorégramme.

A.2 Chromatographie de partage

La chromatographie est une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile.

La chromatographie de partage est une méthode de séparation de molécules suivant leur migration/répartition différentielle dans deux phases liquides. La phase stationnaire est liquide et la phase mobile l'est aussi, les liquides doivent donc être non miscibles.

A.2.1 Principe

Théorie de la partition : la distribution d'un soluté A entre deux solvants non-miscibles, l'un aqueux (S_{aq}), l'autre organique (S_{org}), relève de l'équilibre :

$$A_{Sorg} \leftrightharpoons A_{Saq}$$

La constante d'équilibre est égale à K :

$$K = \frac{[A_{org}]}{[A_{aq}]}$$

C'est l'équation de Nernst pour le partage d'une substance entre 2 phases liquides-non miscibles.

A_{Sorg} **:** concentration en soluté A dans la phase organique.

A_{Saq} **:** concentration en soluté A dans la phase aqueuse.

Cette constante d'équilibre à une température donnée est appelée **coefficient de partage** ou de distribution.

Un soluté très soluble dans la phase fixée migrera lentement, la force de rétention prédominant sur la force d'entraînement. A l'inverse, un soluté soluble dans la phase mobile migrera rapidement.

Rapport frontal : on appelle rapport frontal, R_F (ou référence front, coefficient de migration), le rapport suivant : Distance parcourue par le soluté / Distance parcourue par le solvant. Dans le schéma ci-dessous le rapport frontal R_f est :

$$R_f = \frac{x}{y}$$

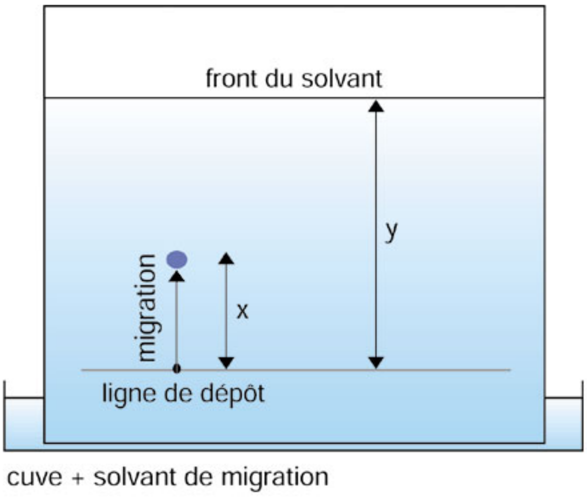


FIGURE A.2 – Rapport frontal.

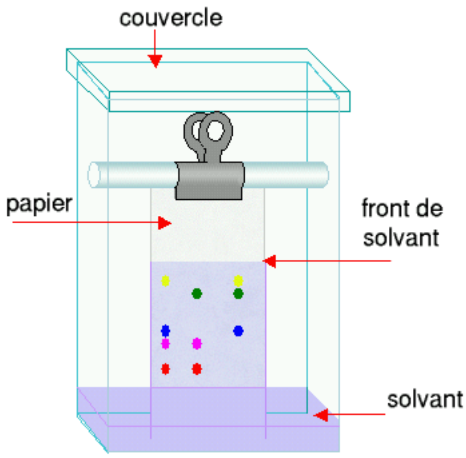


FIGURE A.3 – Schéma d'une chromatographie sur papier.

A.2.2 Chromatographie de partage sur papier : méthode

On utilise comme support une feuille de papier filtre spécial ou une couche mince d'adsorbant appliquée sur une plaque de verre (chromatographie en couche mince). La couche de papier est d'abord hydraté, la cellulose du papier très hydrophile se sature en eau, ce qui constitue la phase fixe. Une microgoutte du mélange à analyser est y ensuite disposée, la feuille de papier est placée verticalement dans une enceinte close saturée par le solvant et maintenue à température constante. On peut opérer selon deux modalités :

Chromatographie ascendante : on dépose les substances à séparer sur une ligne horizontale à une certaine distance du bord inférieur du papier. Le papier plonge dans un récipient contenant la phase mobile.

Chromatographie descendante : la feuille de papier plonge par son bord supérieur dans une cuve contenant la phase mobile, elle est pliée et maintenue de façon à rester verticale dans l'enceinte close. Les substances à séparer sont déposées sur une ligne située à l'extrémité supérieur de la feuille.

Le choix de la phase mobile est important, il se fait en fonction des molécules à séparer.

Révélation : à la fin de la migration chromatographique (3 à 8h) le support est récupéré et séché. On pulvérise à sa surface un réactif capable de faire apparaître les composés analysés sous forme de taches colorées. C'est la *révélation du chromatogramme*.

Identification : l'identification des éléments se fait en utilisant des substances témoins connues sur le même support chromatographique ou par la détermination du R_f qui est une constante caractéristique de la substance et du système utilisé (support, solvants, temps de migration).

Remarque : Dans le cas où le mélange contient des solutés de mobilités voisines, on peut augmenter le pouvoir séparateur en réalisant une chromatographie bidimensionnelle : sur le même support, on réalise une première chromatographie à l'aide d'un système de solvants, puis une deuxième à l'aide d'un second système de solvants, dans une direction perpendiculaire à la première.

A.2.3 Chromatographie à échange d'ions

La chromatographie à échange d'ions (ou chromatographie à ions ou chromatographie échangeuse d'ions) est un type de chromatographie en phase liquide permettant d'isoler une substance chargée électriquement d'un mélange de molécules chargées (liquide). Pour cela, on fait passer le mélange sur une phase stationnaire (solide) chargée déjà associée à des ions connus et on remplace ces ions par les ions/molécules chargées du mélange à séparer.

Phase stationnaire

Les phases stationnaires utilisées en chromatographie à ions sont des résines échangeuses d'ions synthétiques, soit des « matériaux polymériques de masse molaire élevée qui contiennent de nombreux groupements fonctionnels ioniques par molécule. » En chromatographie à ions, une phase stationnaire peut contenir soit des groupements fonctionnels anioniques (pour les échanges de cations), soit cationiques (pour les échanges d'anions).

Éluant

Il y a deux manières pour éluer les molécules fixées sur la résine :

- en ajoutant un sel (à une concentration croissante) qui apporte forcément un ion de même charge que les molécules fixées à la résine : cet ion s'appelle un contre - ion.
- en modifiant le pH de la phase mobile de telle sorte que les molécules qui sont chargées ne le soient plus (ou qu'elles portent une charge de même signe que l'échangeur d'ions). Il n'y a plus d'interaction électrostatique entre les molécules et le groupement chargé porté par la résine et les molécules sont éluées.

A.3 La chromatographie d'exclusion

Ce type de chromatographie est encore appelé : tamisage moléculaire, gel-filtration ou perméation de gel.

La chromatographie d'exclusion permet la séparation des molécules en fonction de leur taille et de leur forme. On utilise pour cela des granules de gel poreux. Le plus utilisé est le SéphadexTM.

Les grosses molécules (dont le diamètre est supérieur à celui des pores) sont exclues et sont donc éluées les premières, au niveau du volume mort. Les petites et moyennes molécules sont éluées plus tardivement, car incluses dans le gel, leur migration est freinée.

Les solutés sont donc élués dans l'ordre inverse des masses moléculaires.

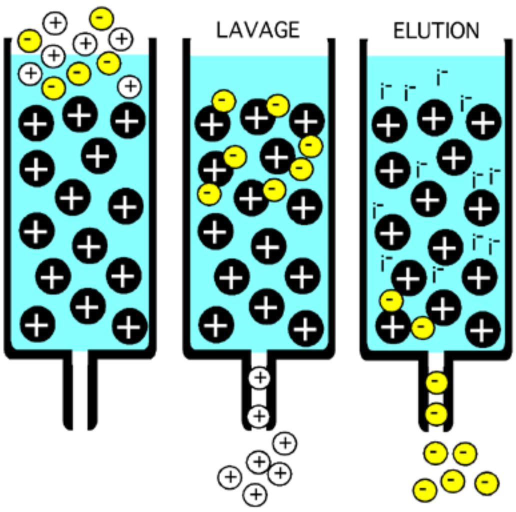


FIGURE A.4 – Chromatographie à échange d'ions

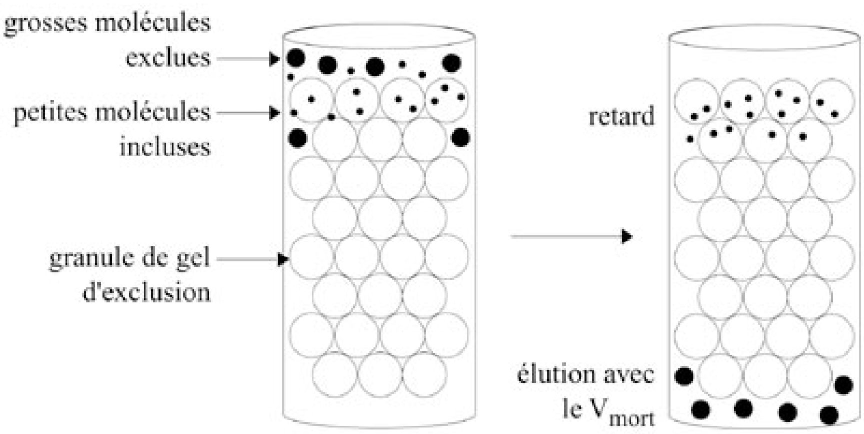


FIGURE A.5 – Schéma du tamisage moléculaire.

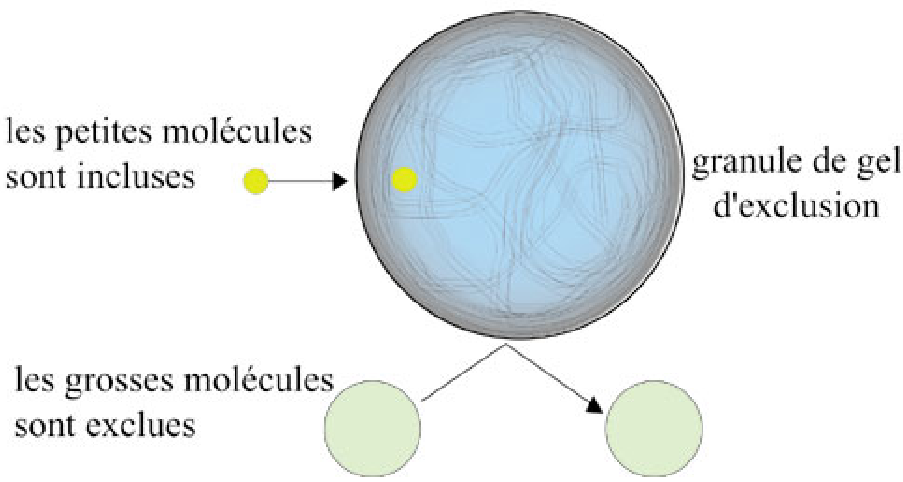


FIGURE A.6 – Représentation d'un gel d'exclusion.

Table des matières

Bibliographie

[1] WIKIPÉDIA : Hydrophilie.
Lien : http://fr.wikipedia.org/wiki/Hydrophilie.

[2] WIKIPÉDIA : Hydrophobe.
Lien : http://fr.wikipedia.org/wiki/Hydrophobe.

[3] WIKIPÉDIA : Corps gras.
Lien : http://fr.wikipedia.org/wiki/Corps_gras.

[4] WIKIPÉDIA : Amphiphile.
Lien : http://fr.wikipedia.org/wiki/Amphiphile.

[5] WIKIPÉDIA : Hydrocarbure.
Lien : http://fr.wikipedia.org/wiki/Hydrocarbure.

[6] WIKIPÉDIA : Aromaticité.
Lien : http://fr.wikipedia.org/wiki/Aromaticite.

[7] WIKIPÉDIA : Composé aliphatique.
Lien : http://fr.wikipedia.org/wiki/Compose_aliphatique.

[8] IUPAC Compendium of CHEMICAL TERMINOLOGY : Fatty acids.
Lien : http://goldbook.iupac.org/F02330.html.

[9] WIKIPÉDIA : Acide gras saturé.
Lien : http://fr.wikipedia.org/wiki/Acide_gras_sature.

[10] Cours MÉDECINE : Les lipides.
Lien : http://www.cours-medecine.info/biochimie/lipides.html.

[11] WIKIPÉDIA : Acide gras insaturé.
Lien : http://fr.wikipedia.org/wiki/Acide_gras_insature.

[12] WIKIVERSITÉ : Acides gras.
Lien : http://fr.wikiversity.org/wiki/Lipides/Acides_gras.

[13] AZAQUAR.COM : Lipides : Acides gras, lipides simples et complexes.
Lien : http://www.azaquar.com/iaa/index.php?cible=ca_lipides.

[14] Jacques-Paul BOREL, Alain RANDOUX, François-Xavier MAQUART et Philippe GILLERY : *Biochimie dynamique*. De boeck, 2e édition, 1997. Pages 111–112, pour toutes les propriétés physiques.

[15] Jacques-Paul BOREL, Alain RANDOUX, François-Xavier MAQUART et Philippe GILLERY : *Biochimie dynamique*. De boeck, 2e édition, 1997. Pages 113–114, pour toutes les propriétés chimiques.

[16] WIKIVERSITÉ : Acides gras.
Lien : http://fr.wikiversity.org/wiki/Lipides/Acides_gras#Oxydation.

[17] WIKIPÉDIA : Eicosanoïde.
Lien : http://fr.wikipedia.org/wiki/Eicosanoide.

[18] Jacques-Paul BOREL, Alain RANDOUX, François-Xavier MAQUART et Philippe GILLERY : *Biochimie dynamique*. De boeck, 2e édition, 1997. Page 114.

[19] Jacques-Paul BOREL, Alain RANDOUX, François-Xavier MAQUART et Philippe GILLERY : *Biochimie dynamique*. De boeck, 2e édition, 1997. Page 116.

[20] Jacques-Paul BOREL, Alain RANDOUX, François-Xavier MAQUART et Philippe GILLERY : *Biochimie dynamique*. De boeck, 2e édition, 1997. Page 115.

[21] Jacques-Paul BOREL, Alain RANDOUX, François-Xavier MAQUART et Philippe GILLERY : *Biochimie dynamique*. De boeck, 2e édition, 1997. Page 119.

[22] Jacques-Paul BOREL, Alain RANDOUX, François-Xavier MAQUART et Philippe GILLERY : *Biochimie dynamique*. De boeck, 2e édition, 1997. Page 138.

[23] Licence STE – BIOCHIMIE : Les lipides. Page 15
Lien : http://sites.univ-provence.fr/wabim/d_agora/d_biochimie/lipides.pdf.

[24] Licence STE – BIOCHIMIE : Les lipides. Page 16
Lien : http://sites.univ-provence.fr/wabim/d_agora/d_biochimie/lipides.pdf.

[25] Licence STE – BIOCHIMIE : Les lipides. Page 17
Lien : http://sites.univ-provence.fr/wabim/d_agora/d_biochimie/lipides.pdf.

[26] WIKIPÉDIA : Plasmalogène.
Lien : http://fr.wikipedia.org/wiki/Plasmalogene.

[27] WIKIVERSITÉ : Cérides et glycérolipides.
Lien : http://fr.wikiversity.org/wiki/Lipides/Cerides_et_glyerolipides.

[28] Bourama NIASSY : Structure et synthèse de céramides isolés du polypore du bouleau. 1978.
Lien : Lien : http://www.sist.sn/gsdl/collect/butravau/index/assoc/HASH26e1.dir/THS-6182.pdf.

[29] Licence STE BIOCHIMIE : Les lipides. Page 24
Lien : http://sites.univ-provence.fr/wabim/d_agora/d_biochimie/lipides.pdf.

[30] WIKIPÉDIA : Cérébroside.
Lien : http://fr.wikipedia.org/wiki/Cerebroside.

[31] Jacques-Paul BOREL, Alain RANDOUX, François-Xavier MAQUART et Philippe GILLERY : *Biochimie dynamique*. De boeck, 2e édition, 1997. Page 142.

[32] WIKIPÉDIA : Projection de fischer.
Lien : http://fr.wikipedia.org/wiki/Projection_de_Fischer.

[33] Jacques-Paul BOREL, Alain RANDOUX, François-Xavier MAQUART et Philippe GILLERY : *Biochimie dynamique*. De boeck, 2e édition, 1997. Page 143.

[34] Jacques-Paul BOREL, Alain RANDOUX, François-Xavier MAQUART et Philippe GILLERY : *Biochimie dynamique*. De boeck, 2e édition, 1997. Page 146.

[35] Jacques-Paul BOREL, Alain RANDOUX, François-Xavier MAQUART et Philippe GILLERY : *Biochimie dynamique*. De boeck, 2e édition, 1997. Page 163.

[36] Jacques-Paul BOREL, Alain RANDOUX, François-Xavier MAQUART et Philippe GILLERY : *Biochimie dynamique*. De boeck, 2e édition, 1997. Page 165.

[37] Jacques-Paul BOREL, Alain RANDOUX, François-Xavier MAQUART et Philippe GILLERY : *Biochimie dynamique*. De boeck, 2e édition, 1997. Page 165.

[38] WIKIPÉDIA : Hélice alpha.
Lien : http://fr.wikipedia.org/wiki/Helice_alpha.

[39] Licence STE BIOCHIMIE : Les protéines. Pages 47–48
Lien : `http://sites.univ-provence.fr/wabim/d_agora/d_biochimie/proteines.pdf`.

[40] Licence STE BIOCHIMIE : Les protéines. Pages 49–50
Lien : `http://sites.univ-provence.fr/wabim/d_agora/d_biochimie/proteines.pdf`.

[41] AZAQUAR.COM : Protéines : Acides aminés et peptides.
Lien : `http://www.azaquar.com/iaa/index.php?cible=ca_proteines`.

[42] Jacques-Paul BOREL, Alain RANDOUX, François-Xavier MAQUART et Philippe GILLERY : *Biochimie dynamique*. De boeck, 2e édition, 1997. Page 97.

[43] Jacques-Paul BOREL, Alain RANDOUX, François-Xavier MAQUART et Philippe GILLERY : *Biochimie dynamique*. De boeck, 2e édition, 1997. Page 52.

[44] Licence STE – BIOCHIMIE : Les glucides.
Lien : `http://sites.univ-provence.fr/wabim/d_agora/d_biochimie/glucides.pdf`.

[45] Université en LIGNE : Les glucides.
Lien : `http://www.uel.education.fr/consultation/reference/biologie/biochimie1/`.

[46] Jacques-Paul BOREL, Alain RANDOUX, François-Xavier MAQUART et Philippe GILLERY : *Biochimie dynamique*. De boeck, 2e édition, 1997. Pages 155–156, pour toute la section traitant de l'amidon.

[47] Serge WEINMAN : *Toute la biochimie*. Dunod, 1re édition, 2004. Page 70.